

Contribution à l'étude
DE
l'immunité antituberculeuse

Essais de vaccination préventive et curative du cobaye et du
lapin au moyen de bacilles de Koch morts.

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le 20 Avril 1936

PAR

Mlle J. PENN

Docteur en Pharmacie
Lauréate de la Faculté de Pharmacie
(Médaille d'argent, Prix Jean Diacon)
Licenciée ès sciences naturelles

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME SUPERIEUR DE PHARMACIEN

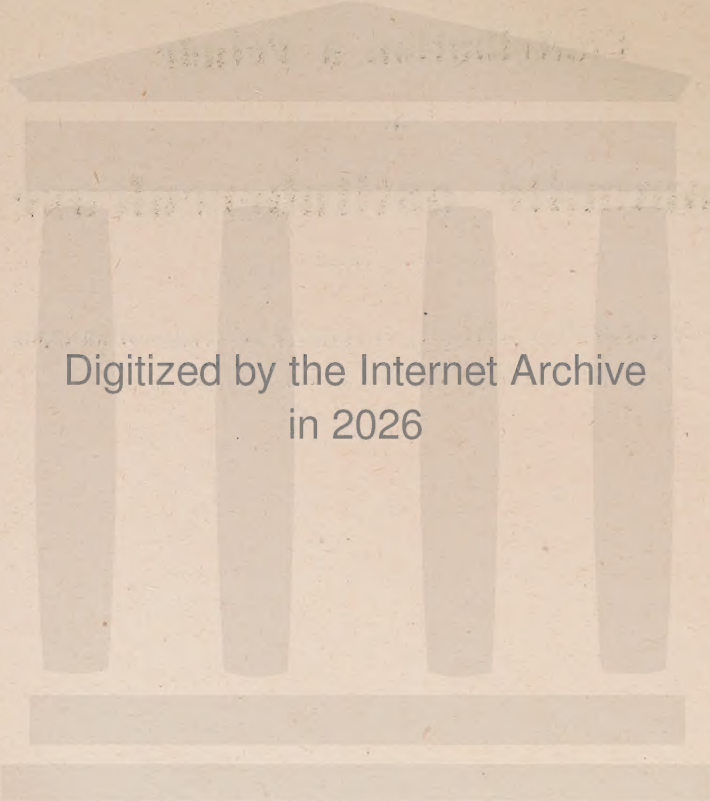
JURY : { MM. HOLLANDE, Professeur, *Président*.
JUILLET, Professeur.
MOUSSERON, Professeur. } *Assesseurs.*

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA CHARITÉ
(Pierre-Rouge)

1936

Contribution à l'étude
de
l'immunité antituberculeuse

Essais de vaccination préventive et curative du cobaye et du lapin
au moyen de bacilles de Koch morts.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Essais de vaccination préventive et curative du cobaye et du lapin au moyen de bacilles de Koch morts.

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

PAR

Docteur en Pharmacie
Lauréate de la Faculté de Pharmacie
(Médaille d'argent. Prix Jean Diacon)
Licenciée ès sciences naturelles

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME SUPERIEUR DE PHARMACIEN

JURY : MM. HOLLANDE, Professeur, *Président*.
JUILLET, Professeur.
MOUSSERON, Professeur. } *Assesseurs.*

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA CHARITÉ
(Pierre-Rouge)

1936

Faculté de Pharmacie de Montpellier

MM.

ADMINISTRATION

A. ASTRUC (O. ✱, I. P. ☼)		<i>Doyen.</i>
A. JUILLET (I. P. ☼)		<i>Assesseur.</i>
LEBLAYE (A. ☼)		<i>Secrétaire.</i>

MM.

PROFESSEURS

A. ASTRUC (O. ✱, I. P. ☼)		<i>Pharm. galénique et industrielle.</i>
C. HOLLANDE (I. P. ☼)		<i>Zoologie et microbiologie.</i>
A. JUILLET (I. P. ☼)		<i>Botanique et matière médicale.</i>
A. FAUCON (O. ✱, I. P. ☼, ☼, C. ✚, G. O. ✚)		<i>Pharmacie chimique.</i>
E. CANALS. (I. P. ☼)		<i>Physique.</i>
M. MOUSSERON		<i>Chimie organique.</i>
P. JAULMES, Chargé du Cours	..	<i>Analyse et Toxicologie.</i>
E. CANALS (I. P. ☼) Chargé du Cours		<i>Chimie minérale.</i>



DOYEN HONORAIRE

M. G. MASSOL (✱, I. P. ☼)

M.

PROFESSEUR HONORAIRE

F. JADIN (O. ✱, I. P. ☼), Doyen hon. de la Faculté de Pharm. de Strasbourg.

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES ET AUXILIAIRES

MM.

A. ASTRUC (O. ✱, I. P. ☼)		<i>Hydrologie.</i>
C. HOLLANDE (I. P. ☼)		<i>Zoologie.</i>
A. JUILLET (I. P. ☼)		<i>Botanique.</i>
A. FAUCON (O. ✱, I. P. ☼, ☼, C. ✚, G. O. ✚)		<i>Fonctions en chimie organique.</i>
M. MOUSSERON		<i>Chimie biologique.</i>
P. JAULMES		<i>Toxicologie.</i>
MOYE, Doyen hon. Fac. de Droit (✱, I. P. ☼)		<i>Législation pharmaceutique.</i>

AGRÉGÉ

M. P. CASTEL, chargé d'Agrégation

MM.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

L. FARRÉ (I. P. ☼)		<i>Chimie et Pharmacie.</i>
DAUBIAN DELISLE (✱, I. P. ☼)		<i>Physique.</i>
SUSPLUGAS		<i>Histoire naturelle.</i>

NOTA. — La Faculté de Pharmacie n'accepte la responsabilité d'aucune des opinions émises par les candidats dans les Thèses ou Synthèses qui lui sont présentées.

A MES PARENTS

A MON FRÈRE ET A MA BELLE-SŒUR

A TOUS LES MIENS

J. P.

A MON MAITRE,
MONSIEUR LE PROFESSEUR HOLLANDE

A MONSIEUR LE PROFESSEUR JUILLET,
Correspondant national de l'Académie de Médecine.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MOUSSERON

J. P.

AVANT-PROPOS

Arrivée au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre gratitude au Maître qui, dans un passé déjà lointain, nous accueillit dans son laboratoire et sut développer en nous le goût de la recherche scientifique.

En nous appelant, il y a quelques années, à collaborer à ses travaux sur la tuberculose expérimentale, Monsieur le Professeur HOLLANDE nous donnait une marque de confiance que nous souhaitons avoir pleinement justifiée. Sous sa direction éclairée, nous avons abordé l'étude de quelques-uns des problèmes délicats que pose l'immunité antituberculeuse ; puisse notre modeste contribution avoir apporté quelque clarté dans un ensemble de faits aussi complexes et avoir ouvert la voie à de nouvelles recherches.

Nous remercions vivement Monsieur le Professeur JUILLET de l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de faire partie de notre jury de thèse. Au cours de nos études pharmaceutiques, nous avons eu maintes fois l'occasion d'apprécier sa grande bienveillance à notre égard ; il nous en donne aujourd'hui un nouveau témoignage auquel nous sommes très sensible.

Enfin, il nous est particulièrement agréable de voir siéger dans ce jury, parmi nos Maîtres, Monsieur le Professeur MOUSSEON qui fut notre condisciple à la Faculté de Pharmacie. Sa présence ici est le meilleur gage de l'amitié qui nous lie depuis de longues années, et nous en sommes profondément touchée.

Qu'il nous soit permis, en terminant, d'adresser un hommage reconnaissant à tous nos Maîtres de la Faculté de Pharmacie et de la Faculté des Sciences dont les enseignements précieux ont contribué à notre formation scientifique, et d'associer, dans une même pensée émue, ceux de nos Maîtres trop tôt disparus dont le souvenir demeure vivace au sein de notre Faculté.

J. P.

SOMMAIRE

Introduction et aperçu historique	17
I. La composition chimique du bacille tuberculeux	18
II. Les tentatives de vaccination antituberculeuse	24
1 ^o Essais de vaccination par les tuberculines et les extraits bacillaires	24
2 ^o Essais de vaccination par les bacilles tués	26
a) Bacilles tués par chauffage	26
b) Bacilles tués par divers agents chimiques ...	28
3 ^o Essais de vaccination par les bacilles vivants, viru- lents ou atténués	29

CHAPITRE PREMIER

Méthodes et Techniques	37
I. Origine et caractères de la souche de bacilles tuberculeux utilisée dans nos essais de vaccination	38
II. Techniques d'émulsion et de numération	41
1 ^o Mode de préparation des émulsions vaccinales ...	41
2 ^o Mode de préparation des émulsions bacillaires des- tinées aux inoculations virulentes	42
A) Préparation de l'émulsion microbienne	42
B) Numération directe des bacilles de Koch par la méthode de coloration au bleu de Nil	43
III. Techniques sérologiques	45
1 ^o Préparation de l'émulsion microbienne destinée aux réactions d'agglutination et de déviation du complément	46

2° Technique de la recherche des agglutinines	47
a) Obtention des sérums	47
b) Dilution des sérums	47
c) Réaction d'agglutination	48
3° Technique de la recherche des sensibilisatrices par la méthode de déviation du complément.....	49
a) Préparation des hématies	50
b) Obtention et titrage du sérum hémolytique.	50
c) Préparation et titrage de l'alexine	51
d) Préparation des antigènes	53
e) Réaction de CALMETTE et MASSOL.....	55
IV. Techniques cytologiques de fixation et de coloration des pièces destinées à l'examen histologique.....	56
1° Fixation	56
2° Déshydratation et inclusion	56
3° Coloration	56

CHAPITRE II

Action, sur le cobaye et le lapin, d'un bacille tuberculeux vivant avirulent du type humain au stade jeune de son développe- ment (<i>souche servant à la préparation des émulsions vaccin-les</i>)..	59
I. Expérimentation sur le cobaye	61
Série I	61
Série II	63
II. Expérimentation sur le lapin	66
Conclusions	69

CHAPITRE III

Recherches sur l'action nocive d'un bacille tuberculeux humain avirulent (<i>stade forme jeune</i>), tué et diversement traité, et sur la production des anticorps chez l'animal au moyen de ce bacille	71
A) Traitements chimiques et physiques des émulsions bacillaires destinées à la préparation des vaccins...	71

I. Vaccins à base de bacilles non dégraissés	72
1 ^o Bacilles traités par le trioxyméthylène en solution sulfitée, puis chauffés	72
2 ^o Bacilles successivement traités par divers halogènes (iode ou brome) et par le trioxyméthylène en solution sulfitée, puis chauffés	73
Vaccin iodé	73
Vaccin bromé	74
II. Vaccins à base de bacilles de Koch dégraissés ...	75
1 ^o Bacilles dégraissés par l'éther sulfurique	75
2 ^o Bacilles dégraissés par l'action successive de l'éther et du chloroforme	76
3 ^o Bacilles dégraissés par l'action successive de l'acétone et de l'éther	76
B) Effets expérimentaux des bacilles tuberculeux diversément traités sur l'animal neuf.....	76
I. Action des bacilles non dégraissés	76
1 ^o Bacilles formolés	76
a) Action sur le cobaye	77
b) Action sur le lapin	78
2 ^o Bacilles traités par l'iode ou le brome, puis formolés	79
a) Action sur le cobaye	79
Cas des bacilles iodés	80
Cas des bacilles bromés	81
b) Action sur le lapin	83
Cas des bacilles iodés	83
Cas des bacilles bromés	88
c) Expérimentation chez l'âne	91
II. Action des bacilles dégraissés	103
Conclusions	109

CHAPITRE IV

Premiers essais de vaccination antituberculeuse par les bacilles morts provenant de souches bovines virulentes ou avirulentes.	113
1 ^o Préparation des vaccins	113
2 ^o Vaccination préventive chez le lapin	116
3 ^o Inoculation	117
4 ^o Résultats de l'expérimentation	118
a) Lapins tuberculeux témoins	118
b) Lapins ayant été soumis à la vaccination préventive.	119
Conclusions	122

CHAPITRE V

Essais de vaccination préventive et curative chez le lapin	123
I. Essais de vaccination préventive chez le lapin	123
<i>Série A</i>	
1 ^o Traitement préventif	124
Réactions sérologiques	125
2 ^o Inoculation	127
1) Lapins tuberculeux témoins	128
2) Lapins tuberculisés après vaccination préven- tive	131
a) Lapins n'ayant pas subi de traitement curatif	131
b) Lapins vaccinés préventivement et ayant subi un traitement curatif	134
Conclusions relatives aux lapins de la série A	137
<i>Série A'</i>	
1 ^o Traitement préventif	139
2 ^o Inoculation	143

1) Lapins tuberculeux témoins	143
2) Lapins tuberculeux ayant été soumis à la vaccination préventive	145
Conclusions relatives aux lapins de la série A'	148

II. Essais de vaccination uniquement curative chez le lapin. 149

Série B1

1 ^o Inoculation	149
2 ^o Traitement curatif	150
3 ^o Résultats de l'expérimentation	152

Série B2

1 ^o Inoculation	156
2 ^o Traitement curatif	156
3 ^o Résultats de l'expérimentation	157

Série B3

1 ^o Inoculation	160
2 ^o Traitement curatif	160
3 ^o Résultats de l'expérimentation	160

Conclusions relatives aux lapins des séries B1, B2 et B3.	163
---	-----

CHAPITRE VI

Essais de vaccination préventive et curative chez le cobaye ... 165

I. Essais de vaccination préventive

Série A1

Vaccination préventive	165
Tuberculisation	168
1 ^o Cobayes tuberculeux témoins	169
2 ^o Cobayes tuberculeux ayant été soumis à la vaccination préventive	171

Conclusions relatives aux cobayes de la série A1	181
--	-----

II. Essais de vaccination curative chez le cobaye	184
<i>Série B1</i>	
1 ^o Traitement curatif	184
2 ^o Résultats de l'expérimentation	185
<i>Série B2</i>	
1 ^o Inoculation	189
2 ^o Traitement curatif	190
3 ^o Résultats de l'expérimentation	190
a) Cobayes tuberculeux témoins	190
b) Cobayes traités par le vaccin éthéré-iodé ...	193
c) Cobayes traités par le vaccin éthéré-chloro- formé-iodé	196
Conclusions relatives aux cobayes des séries B1 et B2 ...	198

CHAPITRE VII

Essais de sérothérapie antituberculeuse chez le lapin et le cobaye.	199
I. Essai du sérum d'âne préparé sur l'animal sain	200
II. Essais de sérothérapie chez le lapin	202
<i>Série C2</i>	
1 ^o Inoculation	202
2 ^o Traitement curatif	202
3 ^o Résultats de l'expérimentation	203
III. Tentatives de séro-vaccination chez le lapin	205
<i>Série D2</i>	
1 ^o Traitement curatif	205
2 ^o Résultats de l'expérimentation	205
Conclusions relatives aux lapins des séries C2 et D2	207
IV. Essais de sérothérapie chez le cobaye	207
<i>Série C1</i>	
1 ^o Inoculation	207

2 ^o Traitement curatif	208
3 ^o Résultats de l'expérimentation	208
a) Cobayes tuberculeux témoins	208
b) Cobayes tuberculeux traités par le sérum	211
Conclusions relatives aux cobayes de la série C1	213

CHAPITRE VIII

Essai de traitement curatif, chez le cobaye, par des bacilles tuberculeux (<i>type humain</i>) avirulents, tués par l'action de la chaleur et mis au contact d'extrait de pancréas autolysé provenant d'un animal hyperimmunisé	215
I. Préparation de l'extrait pancréatique	216
II. Expérimentation chez le cobaye tuberculeux	217
<i>Série D1</i>	
1 ^o Inoculation	217
2 ^o Traitement curatif	217
3 ^o Résultats de l'expérimentation	217
Conclusions relatives aux cobayes de la série D1	219
 Conclusions générales	 221
 Bibliographie	 225

INTRODUCTION ET APERÇU HISTORIQUE

Parmi les maladies d'origine microbienne qui frappent l'humanité, la tuberculose est une de celles qui exercent les plus grands ravages ; et l'on conçoit que les diverses branches de la thérapeutique moderne : chimiothérapie d'une part, vaccinothérapie et sérothérapie d'autre part, aient été activement exploitées en vue de la lutte contre le fléau.

En 1882, la découverte, par R. KOCH, de l'agent spécifique causal de la maladie, semblait ouvrir à l'activité des chercheurs un champ immense et autoriser tous les espoirs dans le domaine de la vaccination.

Malheureusement, les premières tentatives d'immunisation effectuées, suivant les procédés communément employés, au moyen des bacilles tués ou des toxines bacillaires (tuberculines), aboutirent à des résultats négatifs, voire même désastreux (tuberculinothérapie préconisée en Allemagne par R. KOCH) ; ce qui pouvait laisser supposer, à première vue, que l'immunité antituberculeuse différait, dans son essence, de l'immunité telle qu'on la conçoit pour les autres maladies infectieuses.

Avant de relater les nombreux essais de prémunition et de vaccinothérapie réalisés dans le domaine de la tuberculose, nous préciserons quelques points relatifs à la composition chimique du bacille tuberculeux et susceptibles d'expliquer, à notre avis, le mécanisme complexe de l'infection, l'évolution lente de la maladie vers la forme chronique, en même temps que les difficultés auxquelles se heurtent les tentatives d'immunisation.

I. — La composition chimique du bacille tuberculeux.

La composition chimique du bacille de KOCH a fait l'objet de très nombreux travaux, depuis les recherches initiales de HAMMERSCHLAG (1888), SCHWEINITZ et DORSET (1895). Mais la variété des méthodes d'extraction utilisées et la terminologie spéciale adoptée par les différents chercheurs ont créé une certaine confusion dans l'étude de la chimie bacillaire. La question a été récemment mise au point par J. ALBERT-WEIL (1931) qui a comparé méthodiquement entre elles les diverses fractions protéiques ou lipoidiques extraites du bacille de KOCH.

Les phénomènes de l'intoxication tuberculeuse furent attribués, à l'origine, aux produits solubles du bacille, groupés sous le terme générique de « tuberculines » ; mais les travaux ultérieurs de R. KOCH, PRUDDEN et HODENPYL (1891), STRAUS et GAMALEIA (1891), GRANCHER et LEDOUX-LEBARD (1891), démontrèrent que les corps microbiens tués par la chaleur et débarassés des produits solubles étaient encore toxiques.

C'est ainsi que l'injection de bacilles morts, par la voie sous-cutanée, pouvait déterminer l'apparition d'un abcès au point de l'inoculation, alors que l'injection intraveineuse était susceptible de provoquer, chez le lapin, la formation de nodules tuberculeux pulmonaires.

D'autre part, les auteurs constatèrent que l'inoculation des bacilles morts à l'animal tuberculeux entraînait, au même titre que la tuberculine, une réaction fébrile caractéristique.

Il existait donc bien deux groupes de poisons : les poisons diffusibles et les poisons non diffusibles, endomicrobiens. On reconnut par la suite que les poisons diffusibles, solubles dans l'eau et les solutions chlorurées sodiques faibles, étaient de nature exclusivement protéique. Quant aux poisons endomicrobiens, non diffusibles, ils se rattachaient, au point de vue chi-

mique, à deux groupes différents : les matières protéiques d'une part, les substances lipoido-grasseuses d'autre part (1).

J. AUCLAIR (1897) extrait du bacille tuberculeux une éthérobacilline (substances lipoido-grasseuses solubles dans l'éther) et une chloroformo-bacilline (substances lipoido-grasseuses solubles dans le chloroforme). J. AUCLAIR et L. PARIS (1908) isolent successivement des bacilles de KOCH tués par la chaleur : des poisons solubles d'origine protéique (albumoses, albumines, globulines) qui présentent les caractères de la tuberculine de KOCH ; des poisons endomicrobiens d'origine protéique (bacillo-caséine d'AUCLAIR et PARIS), se rattachant au groupe des nucléoprotéines (2) ; enfin, des poisons endomicrobiens lipoidiques.

Ces résultats étaient en accord avec ceux de RUPPEL qui, dès 1898, avait réussi à identifier un acide nucléique parmi les constituants du bacille de KOCH. LEVENE (1901) avait retrouvé cet acide dont l'hydrolyse libérait des bases puriques (guanine et adénine).

(1) On groupe, d'après l'ancienne nomenclature, sous le terme de lipoides :

- a) Les cires et les graisses du bacille tuberculeux ;
- b) Les phosphatides.

a) Les cires sont des éthers simples résultant de l'éthérification, par un acide gras, d'un alcool de la série grasse à poids moléculaire élevé. Les graisses sont constituées par des glycérides.

b) Les phosphatides sont des lipoides azotés et phosphorés complexes appartenant au même groupe que les lécithines. Celles-ci résultent de l'éthérification, dans l'acide glycérophosphorique, des fonctions alcool de la chaîne glycérique par des acides gras ; d'autre part, une des fonctions acide du groupe phosphorique éthérifie une fonction alcool d'un composé azoté tel que la choline.

Dans les lécithines proprement dites, le rapport $\frac{N}{P} \left(\frac{\text{Azote}}{\text{phosphore}} \right)$ est égal à 1.

Les phosphatides peuvent en différer par la nature des acides gras, par celle du complexe phosphoré, enfin par celle de la base qui peut remplacer la choline.

Le rapport $\frac{N}{P}$ est ici variable.

(2) Nous rappelons que les nucléoprotéines proviennent de l'association d'une protéine et d'une nucléine, substance phosphorée complexe décomposable en une matière albuminoïde et en un acide nucléique.

L'hydrolyse des acides nucléiques libère des bases puriques et pyrimidiques, de l'acide phosphorique et des hydrates de carbone.

J. AUCLAIR et L. PARIS attribuent aux fractions lipéïdiques des propriétés tuberculisantes et caséifiantes. La bacillo-caséine aurait plutôt un effet toxique général.

SAKAE TAMURA (1913) extrait les lipéïdes du bacille tuberculeux par l'alcool-éther, précipite ensuite la totalité des matières protéiques et recueille, en dernier lieu, un résidu insaponifiable qui posséderait l'acido-résistance et auquel il donne le nom de mykol ; ce dernier serait un alcool voisin du lupéol.

Les travaux de GORIS (1920) marquent un progrès notable dans l'étude de la chimie bacillaire. Par l'action du chloroforme, solvant très puissant, l'auteur extrait la totalité des lipéïdes du bacille de KOCH parmi lesquels il identifie un certain nombre de cires et de graisses renfermant toutes du mykol ; ce corps se retrouve soit à l'état libre, soit combiné à divers acides gras : acides stéarique, palmitique, laurique, butyrique, caproïque, etc.

Les substances insolubles dans le chloroforme représentent la totalité des matières albuminoïdes. Les unes, précipitables par l'alcool à 95°, se rattachent au groupe des nucléoprotéïnes et présentent les propriétés de la tuberculine brute de KOCH ; d'autres, non précipitables par l'alcool à 95°, sont constituées par des acides aminés : leucine, tyrosine, tryptophane.

Les travaux de GORIS sont particulièrement intéressants au point de vue de l'étude des lipéïdes ; ils montrent toute l'importance du mykol et de ses éthers auxquels GORIS, tout comme SAKAE TAMURA, attribue l'acido-résistance.

Nous arrivons ainsi aux travaux remarquables de l'école américaine qui a poussé très loin l'analyse des constituants du bacille.

E. LONG (1921) identifie la guanine et l'adénine dans les produits de l'hydrolyse des nucléoprotéïnes bacillaires.

T.-B. JOHNSON et E.-B. BROWN (1922-1923) isolent un acide nucléique auquel ils donnent le nom d'acide tuberculinique ; du résidu bacillaire ils extraient des acides aminés tels que l'arginine, l'histidine et le tryptophane.

R.-D. COGHILL (1926) arrive à distinguer deux fractions protéiques : une protéine hydrosoluble, douée de propriétés tuberculiniques, une protéine soluble dans les alcalis, dépourvue de toute activité tuberculinique.

Parallèlement à ces travaux, d'autres auteurs effectuaient l'étude des constituants protéiques du bacille de KOCH à partir des tuberculines.

On désigne sous ce nom des substances complexes provenant de la concentration, par chauffage, des milieux de culture renfermant les bacilles qui s'y sont développés ; les corps bacillaires sont éliminés ensuite plus ou moins grossièrement par filtration.

Les tuberculines ont la propriété d'être toxiques pour l'animal tuberculeux et de provoquer chez lui, en particulier, des cuti et intradermo-réactions positives.

La cuti-réaction de VON PIRQUET consiste à déposer, dans une scarification légère de la peau, une goutte de tuberculine diluée ; chez l'animal tuberculeux, on observe, dans les 48 heures, une légère induration accompagnée de rubéfaction.

L'intradermo-réaction de MANTOUX se pratique en injectant dans l'épaisseur du derme, au moyen d'une fine aiguille à biseau court, $1/10^6$ à $2/10^6$ de cm^3 de tuberculine diluée au moment de l'emploi — on a constaté, en effet, que les dilutions de tuberculine perdaient assez rapidement leur activité.

MANTOUX préconise l'emploi de tuberculine diluée à 1 pour 5.000 ; toutefois, SAYÉ d'une part, R. DEBRÉ et COFFIÑO d'autre part ont indiqué les dilutions à 1 pour 1000, à 1 pour 100 et même à 1 pour 10 comme étant très favorables (1).

Dans le cas d'une réaction positive, on observe dès le lendemain, au point de l'injection, un léger œdème accompagné de rubéfaction ; le surlendemain se manifeste une infiltration nodulaire centrale, entourée d'un halo rosé. Dans de rares cas, la réaction peut apparaître tardivement au troisième et même au cinquième jour.

En 1926, E.-R. LONG et FLORENCE B. SEIBERT isolent de la tuberculine brute une protéine soluble dans l'eau qui est probablement le principe actif de la tuberculine ; elle renferme l'acide tuberculinique de JOHNSON et BROWN.

LAIDLAW et DUDLEY (1925) identifient un complexe appartenant au groupe des pentoses, ne donnant pas d'intradermo-

(1) Cf. J. VALTIS, *Le virus tuberculeux*, page 78.

réaction positive chez les cobayes tuberculeux ; au contact d'un sérum précipitant de cheval, ce produit donne une réaction de précipitation.

H. MUELLER (1926), à partir de la tuberculine de KOCH, individualise deux substances : l'une donne la réaction spécifique de précipitation, l'autre la réaction cutanée chez le cobaye tuberculeux.

A partir d'une tuberculine préparée sur milieu synthétique de PETROFF, H. MUELLER obtient :

a) une substance donnant des cuti-réactions positives chez le cobaye tuberculeux ; elle est de nature protéique et renferme probablement l'acide nucléique tuberculinique de JOHNSON et BROWN ;

b) une substance se rapprochant du complexe hydrocarboné de LAIDLAW et DUDLEY et précipitable par un sérum spécifique.

C'est à R.-J. ANDERSON (1927) que nous devons l'étude la plus poussée des constituants lipoidiques du bacille tuberculeux.

Après de très nombreuses manipulations, il réussit à isoler des bacilles tuberculeux vivants huit fractions bien définies comprenant des phosphatides, des cires et des graisses, un polysaccharide, enfin un résidu renfermant les protéines bacillaires. Des fractions lipoidiques, R.-J. ANDERSON extrait de nombreux acides gras (acides stéarique, palmitique, oléique) ; il isole également un nouvel acide gras saturé auquel il donne le nom d'acide phtioïque et que l'on retrouve dans presque toutes les fractions lipoidiques isolées du bacille de KOCH. Enfin, il met en évidence un résidu insaponifiable, différent du mykol de SAKAE TAMURA mais possédant comme lui l'acido-résistance.

F.-R. SABIN et C.-A. DOAN (1930-1931) ont étudié l'action biologique de ces diverses fractions. D'après eux, la formation des cellules épithélioïdes et géantes, la production des tubercules sont dues aux lipoides du bacille et, plus spécialement, à certains acides gras de poids moléculaire élevé. Les fractions protéiques produisent des effets généraux toxiques, peu marqués chez l'animal sain, beaucoup plus accentués chez l'animal tuberculeux (effet tuberculinique) ; l'injection de ces protéines déter-

mine une élévation de température chez l'animal tuberculeux.

En résumé, au point de vue des lipoides, nous pouvons conclure que, malgré la diversité des techniques d'extraction mises en œuvre, les différents chercheurs ont obtenu des produits sensiblement comparables : acides gras, éthers complexes, résidu insaponifiable, composés phosphorés du groupe des phosphatides.

Dans l'étude des fractions protéiques, le résultat le plus important est l'isolement d'un acide nucléique particulier, l'acide tuberculinique de JOHNSON et BROWN, auquel on a reconnu la propriété de donner des cuti et intradermo-réactions positives chez les sujets tuberculeux.

Le fait que les constituants endomicrobiens peuvent être doués de propriétés tuberculiques permet de supposer que ces produits renferment de l'acide tuberculinique au même titre que les poisons solubles du microbe. Il n'y a pas de différence fondamentale entre les protéines solubles et les protéines endomicrobiennes.

Il était intéressant, à ce sujet, de rechercher si le principe toxique des tuberculines diffusait réellement des bacilles vivants ou s'il était libéré par la désintégration des corps microbiens au cours de la préparation de la tuberculine.

R.-F. LE GUYON et J. ALBERT-WEIL (1930), par l'ultra-filtration de cultures non chauffées de bacilles tuberculeux, ont démontré l'existence de substances diffusibles, susceptibles de donner des cuti-réactions positives chez les sujets tuberculeux.

Ce bref exposé de la chimie bacillaire met en relief son extrême complexité et permet de saisir l'évolution de la tuberculose, maladie chronique.

A un stade initial, le bacille agit en tant qu'unité vivante, capable de se multiplier dans l'organisme.

A un stade ultérieur, la désintégration des corps microbiens libère les fractions lipoidiques et protéiques toxiques ; ce qui justifie pleinement l'expression d'AUCLAIR et PARIS d'un « germe devenant toxique surtout après sa mort ».

II. — Les tentatives de vaccination antituberculeuse.

Nous avons groupé, dans ce bref aperçu, les nombreuses tentatives de vaccination réalisées depuis la découverte du bacille tuberculeux par R. KOCH.

Nous exposerons successivement les essais effectués à partir des tuberculines et des extraits bacillaires, à partir des bacilles tués et enfin des bacilles vivants, virulents ou atténués.

1^o ESSAIS DE VACCINATION PAR LES TUBERCULINES ET LES EXTRAITS BACILLAIRES.

De nombreux expérimentateurs ont essayé, mais en vain, de réaliser l'immunisation de l'organisme sain par des injections préventives de tuberculine. Les expériences de CALMETTE et GUÉRIN (1914) sont particulièrement concluantes à cet égard. Ces auteurs injectent à des bovidés, par la voie veineuse, de la tuberculine brute ou purifiée. Les animaux traités, soumis ultérieurement à une inoculation virulente d'épreuve, succombent rapidement et présentent, à l'autopsie, des lésions tuberculeuses généralisées.

F. KLOPSTOCK (1913) aboutissait chez le cobaye à des résultats comparables.

Au point de vue curatif, en dépit des insuccès rencontrés à l'origine par quelques expérimentateurs, KOCH en particulier, il semble que la tuberculine puisse être utilisée avec succès, dans certaines conditions, chez les sujets tuberculeux.

CEVEY (1930) s'élève contre l'abandon de la tuberculinothérapie ; celle-ci, en effet, permettrait à l'organisme de résister à l'intoxication tuberculeuse due aux poisons bacillaires. Toutefois, en raison de l'extrême toxicité de la tuberculine vis-à-vis de l'organisme infecté par le bacille de KOCH, la tuberculinothérapie doit être pratiquée avec une extrême prudence et seulement dans les cas de tuberculose non évolutive.

Les fractions lipoidiques ont été elles aussi utilisées en vue du traitement de la tuberculose. La chloroformo-bacilline et l'éthéro-bacilline d'AUCLAIR n'exercent pas d'action notable sur l'évolution de la tuberculose expérimentale.

Les acides gras saturés d'ANDERSON semblent diminuer la résistance de l'animal à l'infection.

Enfin, L. NÈGRE et A. BOQUET ont étudié systématiquement, chez le lapin et le cobaye, l'action des constituants lipoidiques du bacille tuberculeux sur les tuberculoses expérimentales. D'après ces auteurs, les extraits acétoniques de bacilles tuberculeux exercent une action nuisible sur l'évolution de la tuberculose expérimentale du lapin ; les substances ciro-graisseuses solubles dans l'acétone activent très nettement la marche envahissante des lésions.

En accord avec ces résultats, L. NÈGRE et J. VALTIS (1930) constatent que les injections sous-cutanées d'extraits acétoniques favorisent le développement des lésions tuberculeuses chez les cobayes préalablement inoculés avec les éléments filtrables du bacille tuberculeux. Ces derniers n'ont habituellement aucun pouvoir tuberculigène et leur action se limite, en général, à l'hypertrophie de certains ganglions où l'on ne peut déceler la présence de bacilles acido-résistants.

Après avoir éliminé par l'acétone les cires et les graisses toxiques, L. NÈGRE et A. BOQUET reprennent les corps bacillaires par l'alcool éthylique ou méthylique et obtiennent un extrait alcoolique renfermant les phosphatides du bacille tuberculeux.

Ainsi que nous l'exposerons ultérieurement, cet extrait est employé couramment comme antigène dans la réaction de déviation du complément appliquée au diagnostic de la tuberculose. D'autre part, il a été utilisé par les auteurs à divers essais de traitement de la tuberculose expérimentale du lapin et du cobaye.

L'antigène de L. NÈGRE et A. BOQUET injecté au lapin et au cobaye, soit à titre préventif, soit à titre curatif, ralentit et circonscrit l'évolution de la tuberculose expérimentale. Les cobayes et les lapins tuberculeux traités curativement survivent, pour la plupart, de un à cinq mois aux animaux témoins. Les lésions observées sont toujours plus localisées que chez les té-

moins ; chez le lapin, en particulier, elles se localisent aux poumons. Enfin, la sclérose s'établit lentement après huit mois de traitement continu. Injecté préventivement au lapin et au cobaye, l'antigène méthylique modifie sensiblement l'évolution de la tuberculose d'épreuve par rapport aux animaux témoins : survie appréciable, localisation des lésions, établissement de la sclérose.

Ces résultats ont été obtenus par les auteurs en utilisant des doses faibles d'antigène (1 cm^3), répétées deux fois par semaine. Par contre, la dose de 2 cm^3 répétée tous les trois jours s'est montrée nettement défavorable.

Au point de vue clinique, l'antigénotherapie a été préconisée dans certaines formes de tuberculose (tuberculoses cutanées et ganglionnaires) où elle donne des résultats très favorables.

Chez des malades porteurs de lésions oculaires suspectes où la tuberculose est soupçonnée cliniquement, le docteur Ch. DÉJEAN, de Montpellier, utilise avec succès l'antigène méthylique de L. NÈGRE et A. BOQUET (1).

2° ESSAIS DE VACCINATION PAR LES BACILLES TUÉS.

a) *Bacilles tués par chauffage.*

D'après les recherches initiales de STRAUS, l'injection préventive de bacilles stérilisés par chauffage, à doses faibles et répétées, permettait d'obtenir, chez le lapin, un certain degré de résistance à l'infection tuberculeuse. DEMBINSKI (1903) reprend l'étude de cette question en essayant de provoquer, chez le lapin, l'accoutumance aux doses mortelles de cadavres de bacilles tuberculeux.

Nous avons indiqué précédemment que les bacilles de KOCH stérilisés par chauffage demeuraient toxiques pour l'animal neuf et pouvaient provoquer des lésions tuberculeuses.

(1) Il est à noter que, chez ces malades, la réaction d'agglutination effectuée suivant la technique de A.-Ch. HOLLANDE et Mlle J. PENN (1933) se montre positive dans un grand nombre de cas, alors que les réactions de BESREDKA et de VERNES sont souvent infidèles. — Cf. DÉJEAN (Ch.) et CAMBOULIVES (Mlle E.), 1934-1935.

DEMBINSKI, après avoir déterminé la dose de bacilles chauffés mortelle pour le lapin (inoculation intracérébrale), prépare un certain nombre d'animaux par des injections intraveineuses de ces mêmes bacilles. Ces animaux, d'après l'auteur, ne présentent par la suite qu'une résistance très limitée à l'inoculation d'épreuve, effectuée également par la voie intracérébrale. A. CALMETTE et M. BRETON (1907) essaient de prémunir le cobaye par la voie digestive, par ingestion de bacilles tuberculeux chauffés à 100°. Les animaux traités, soumis ultérieurement à l'ingestion virulente d'épreuve, ne résistent que pendant un certain temps et finissent par succomber ; la résistance qui leur a été conférée est donc très relative.

Chez les bovidés, A. CALMETTE et C. GUÉRIN (1914) inoculent, par voie intraveineuse, des bacilles chauffés à 60° et lavés (protoplasme privé de tuberculine). L'inoculation virulente d'épreuve, mortelle pour les témoins en 25 à 35 jours (granulie aiguë), se manifeste, chez les animaux prémunis, par une tuberculose chronique évoluant lentement mais aboutissant à la mort.

A. BOQUET et L. NÈGRE (1923) constatent, chez les animaux soumis aux injections de bacilles chauffés, l'apparition de la sensibilité à la tuberculine.

PETROFF (1923) observe des faits identiques et prétend avoir obtenu, chez le lapin, par des injections intrapéritonéales de bacilles chauffés, un certain degré d'immunité.

Chez l'homme, dès 1903, E. MARAGLIANO avait utilisé un procédé de vaccination basé sur l'emploi des bacilles stérilisés par chauffage ; la technique consistait à insérer, dans une scarification de la peau, une parcelle d'émulsion bacillaire concentrée, en milieu glycérimé.

Contrairement à l'opinion de CALMETTE et de ses élèves, d'après laquelle l'immunité antituberculeuse serait subordonnée à la présence de bacilles vivants dans l'organisme, E. MARAGLIANO (1933), après de très nombreuses années d'expérimentation, conclut à l'existence d'une immunité antituberculeuse qui ne différerait pas de l'immunité telle qu'on la conçoit pour les maladies infectieuses en général ; cette immunité peut être développée par l'introduction de bacilles morts dans l'organisme.

En effet, d'après l'auteur, le bacille de KOCH en tant qu'unité vivante ne joue, dans la tuberculose-maladie, qu'un rôle de début ; réduit par la suite à l'état de cadavre, le bacille subit une désintégration qui libère des principes chimiques à la fois pathogènes et immunisants. Les corps microbiens tués par la chaleur, introduits dans l'organisme par la vaccination, peuvent eux aussi créer le mouvement immunitaire grâce aux principes chimiques qu'ils libèrent.

A. GISMONDI (1934) aboutit à des conclusions identiques. D'après lui, si l'organisme humain acquiert avec l'âge une certaine immunité vis-à-vis de la tuberculose, c'est parce qu'il s'est trouvé en contact avec des quantités minimales de bacilles qui ont pu être digérés, libérant les principes immunisants.

b) *Bacilles tués par divers agents chimiques.*

Des substances chimiques très diverses ont été utilisées par les auteurs en vue de l'obtention des vaccins antituberculeux.

A. CALMETTE et M. BRETON (1907) tentent sans succès d'immuniser le cobaye par l'ingestion de bacilles chlorés (macération dans l'eau de Javel).

H. VALLÉE (1908) aboutit également à des résultats négatifs dans ses essais de vaccination des jeunes bovidés par des bacilles mis au contact de l'eau iodée à 1 pour 400 pendant une heure.

M. RAPPIN (1909) utilise comme antiseptique le fluorure de sodium ; ses essais de vaccination, effectués chez les bovidés à l'aide de bacilles fluorés et sensibilisés par un sérum riche en anticorps, ne semblent pas avoir donné de résultats très probants.

Successivement, de nombreux produits sont utilisés sans aucun succès par les auteurs : l'acide oléique et les oléates de soude ou d'ammoniaque, la choline, la monochlorhydrine, l'ovolécithine.

Reprenant les travaux de RAPPIN qui, dès 1901, signalait l'action de l'urée sur les cultures de bacilles tuberculeux, divers auteurs allemands préconisent un vaccin à base de bacilles traités par une solution d'urée à 25 % pendant quatre à cinq jours. D'après LÉVY, BLUMENTHAL et MARXNER, ce vaccin serait susceptible de conférer au cobaye un faible degré de résistance à l'infection tuberculeuse.

L. RABINOWITSCH (1913) cultive les bacilles tuberculeux en présence de formol à doses très faibles ; les cultures ainsi obtenues sont très peu virulentes et peuvent être supportées par le cobaye à la dose de 2 milligrammes de bacilles injectés sous la peau. L'auteur arrive ainsi à créer un état d'immunité appréciable (survie des animaux traités par rapport aux témoins).

Les bacilles dégraissés par l'action de divers solvants (acétone, éther, xylol, alcool méthylique, éther de pétrole, etc.) ont fait également l'objet de nombreux travaux.

A. CALMETTE, C. GUÉRIN et M. BRETON (1907) mettent au contact de divers solvants (alcool absolu, éther, xylol) des bacilles tuberculeux, et cela pendant plusieurs jours ; les bacilles ainsi privés de leurs constituants ciro-graisseux sont très bien supportés par l'organisme animal mais ne développent en aucune façon la résistance à l'infection tuberculeuse.

H. VALLÉE (1909) ne reconnaît aux bacilles de KOCH dégraissés aucun pouvoir immunisant.

Reprenant les expériences de G. DREYER (1923) qui prétendait avoir réalisé l'immunité chez le cobaye à l'aide de son vaccin « diaplyte » (1), E. GRASSET (1925) conclut à la non-efficacité des bacilles dégraissés constituant ce vaccin.

Enfin, L. NÈGRE et A. BOQUET (1932) constatent que les corps bacillaires dégraissés par l'alcool méthylique sont sans action sur l'évolution de la tuberculose expérimentale.

3° Essais de vaccination par les bacilles vivants, virulents ou atténués.

Les essais de vaccination par les bacilles vivants ont été en général effectués à partir de bacilles présentant une faible virulence, tout au moins vis-à-vis de l'espèce animale envisagée.

THEOBALD SMITH démontra le premier l'existence de plusieurs

(1) Ce vaccin « diaplyte » était constitué par des bacilles formolés, puis chauffés à 100° pendant quatre heures, et en dernier lieu dégraissés par l'acétone.

types de bacilles tuberculeux : type humain, type bovin, d'inégale virulence pour l'homme et les animaux.

Les bacilles du type humain étant reconnus peu virulents pour les bovidés, on conçoit qu'ils aient été utilisés de bonne heure à des essais de vaccination chez ces animaux. Parmi les très nombreux travaux effectués dans ce sens, nous citerons les tentatives de vaccination effectuées par BEHRING (1902) sous le nom de bovo-vaccination ou jennerisation des bovidés. La bovo-vaccination consistait à inoculer à des veaux âgés de six mois, par la voie veineuse, des bacilles tuberculeux humains de faible virulence, à la dose de 4 milligrammes, puis de 20 milligrammes (bacilles considérés à l'état sec). Les animaux vaccinés étaient ensuite soumis à une inoculation virulente d'épreuve ou à la contamination par cohabitation avec des animaux tuberculeux.

Un très grand nombre d'expériences démontrèrent que le bovo-vaccin de BEHRING conférait aux bovidés un état de résistance très net vis-à-vis de l'infection tuberculeuse ; toutefois, cette résistance n'était pas de longue durée et n'excédait pas quelques mois.

S. ARLOING (1906) réalise la culture du bacille tuberculeux dans des conditions très particulières. Il obtient, par agitation des cultures en milieu liquide, des souches parfaitement homogènes et qui, réensemencées fréquemment, perdent bientôt leur virulence initiale.

Injectés aux bovidés, les bacilles du type humain provenant des cultures homogènes d'ARLOING créent une résistance marquée vis-à-vis de l'inoculation virulente d'épreuve. Toutefois, la durée de l'immunité n'a pas été établie.

HEYMANS (1907) tente de vacciner les bovidés en insérant, dans leur tissu conjonctif sous-cutané, un sac en moëlle de roseau renfermant des bacilles de KOCH du type humain. Les résultats qui, d'après l'auteur, s'annonçaient favorables, furent infirmés par la suite.

H. VALLÉE et L. GUINARD (1910) préparent un vaccin à base de bacilles sensibilisés par un sérum de cheval préparé, riche en anticorps ; les résultats, d'après CALMETTE, ne seraient pas très probants.

L. BRUYANT (1911) utilise, en vue de la vaccination, des bacilles très virulents, à doses faibles et répétées. D'après l'auteur, une pareille vaccination présente de graves inconvénients ; les bacilles virulents, en effet, s'accumulent dans l'organisme où, à un moment donné, ils peuvent provoquer une généralisation tuberculeuse des plus néfastes.

SHIGA (1917) réalise la culture du bacille tuberculeux en présence de matières colorantes telles que l'érythrosine. Il obtient ainsi des races de bacilles peu virulentes pour le cobaye. Ces bacilles ont été utilisés en vue de l'obtention d'un sérum sensibilisant et d'un séro-vaccin qui, d'après l'auteur, favoriserait la sclérose des lésions tuberculeuses chez l'homme.

Les travaux de J. FERRAN (de Barcelone) sont basés sur une conception très particulière — et d'ailleurs très discutée — de la nature du virus tuberculeux. D'après cet auteur, la forme acido-résistante du bacille de KOCH dériverait d'un bacille non acido-résistant auquel il donne le nom de bactérie alpha.

La bactérie alpha, qui est incapable de provoquer des lésions tuberculeuses, a été employée depuis 1919 comme vaccin anti-tuberculeux en Espagne et en Amérique du Sud. L'efficacité de ce vaccin n'a pas encore été démontrée ; elle paraît d'ailleurs très problématique car, d'après les travaux de A. CALMETTE et L. MASSOL (1913), il est impossible d'obtenir la transformation de la bactérie alpha en bacille tuberculeux acido-résistant par des passages successifs chez le cobaye.

La bactérie de FERRAN semble donc n'avoir aucun rapport avec le virus tuberculeux et il paraît difficile d'admettre qu'elle puisse exercer une action favorable sur l'évolution de l'infection tuberculeuse.

En 1923, A. BORREL, L. BOEZ et A. DE COULON utilisent comme vaccin, chez le cobaye, une souche bovine dite souche B B, isolée par E. BURNET en 1910 et devenue pratiquement avirulente à la suite de nombreux repiquages. D'après les auteurs, les animaux vaccinés présentent une résistance manifeste aux infections virulentes mais finissent par succomber.

En 1924, H. VALLÉE essaie de réaliser la vaccination, chez les bovidés, en utilisant un bacille peu virulent, d'origine équine,

émulsionné dans de l'huile de vaseline tenant en suspension du talc ou du grès porphyrisé.

Les animaux ainsi vaccinés, soumis ultérieurement à l'inoculation virulente d'épreuve, ne présentent à l'autopsie que des lésions très localisées. Nous devons dire, toutefois, que dans le domaine pratique cette méthode ne semble pas avoir donné les résultats que l'on pouvait en espérer.

Les travaux de A. VAUDREMER (1926-1930) constituent une étape des plus intéressantes dans les essais de vaccination antituberculeuse. A. VAUDREMER constate que le bacille de KOCH sous sa forme acido-résistante, mis à macérer dans un extrait filtré d'*Aspergillus fumigatus*, subit des modifications profondes. Il est possible, après passage dans le milieu aspergillaire, de cultiver le bacille sur gélose ordinaire où il pousse abondamment en 24 heures ; le bacille ainsi modifié a perdu son acido-résistance et ne produit plus de tuberculine. L'auteur a utilisé ce bacille à des essais de vaccination à titre préventif chez les bovidés. Les premières tentatives à partir des bacilles tués par chauffage à 56° furent sans résultats. Des essais ultérieurs, effectués en utilisant les bacilles non chauffés, simplement modifiés par passage dans le filtrat d'*Aspergillus*, ont conduit l'auteur à des résultats fort intéressants. Alors que les animaux témoins étaient porteurs de lésions ganglionnaires très développées, les animaux vaccinés sacrifiés en même temps que les témoins présentaient des lésions moins étendues, quoique fort appréciables. Par contre, chez les animaux vaccinés sacrifiés 122 jours après les témoins, les lésions étaient pratiquement inexistantes et toujours en voie de sclérose.

J. AUCLAIR (1930) envisage la vaccination antituberculeuse selon une conception tout à fait nouvelle, basée sur le fait que les oiseaux présentent une résistance énorme vis-à-vis du bacille tuberculeux du type humain ; c'est ainsi que, d'après l'auteur, un coq injecté de bacilles tuberculeux très virulents résiste et ne présente pas la moindre lésion, alors que la millionième partie de la dose injectée tue le cobaye en trois mois.

J. AUCLAIR explique ces faits par l'existence, dans le pancréas des oiseaux, de substances agissant sur le bacille tuberculeux

et lui conférant des propriétés vaccinales. En mettant au contact d'un extrait de pancréas frais de poule des bacilles tuberculeux à l'état vivant, il constate que ces bacilles perdent leur virulence. Les corps microbiens ainsi modifiés ont été utilisés par l'auteur à des essais de vaccination préventive et curative chez les animaux de laboratoire, ainsi qu'à des essais de traitement curatif chez l'homme. Les résultats, d'après AUCLAIR, seraient des plus favorables ; ils n'ont pu, malheureusement, être contrôlés de manière certaine, l'auteur étant décédé sans avoir publié la technique précise de la préparation des émulsions vaccinales.

Nous avons réservé pour la fin de cet exposé les remarquables travaux de A. CALMETTE et de ses élèves relatifs à la vaccination par la souche B C G avirulente.

Dès 1908, A. CALMETTE avait constaté que les bacilles tuberculeux d'origine bovine pouvaient être cultivés sur pommes de terre cuites dans la bile de bœuf glycinée à 5 %. Il remarqua, par la suite, que par des repiquages successifs ces bacilles perdaient bientôt leur virulence initiale ; injectés aux bovidés, ils étaient bien tolérés et conféraient à l'organisme une résistance manifeste et durable aux inoculations virulentes d'épreuve.

Les bacilles B C G injectés à fortes doses chez le cobaye (voie sous-cutanée) ou chez le lapin (voie veineuse) provoquent toutefois l'apparition de petits follicules tuberculeux à la surface des poumons, du foie et de la rate ; mais ces tubercules guérissent spontanément et disparaissent au bout d'un certain temps sans laisser de trace.

Chez le lapin et le cobaye, animaux particulièrement sensibles à l'infection tuberculeuse expérimentale, A. CALMETTE, A. BOQUET et L. NÈGRE n'arrivent pas à créer une immunité durable. Toutefois, l'absorption de bacilles B C G par la voie buccale peut conférer à l'animal jeune une résistance appréciable à l'infection tuberculeuse d'épreuve, réalisée également par la voie buccale.

En 1921, A. CALMETTE ayant reconnu la parfaite innocuité du B C G, songe à réaliser la prémunition de l'enfant par voie buccale dans les premiers jours qui suivent la naissance ; et c'est

là le début d'une vaste expérience qui depuis lors a porté sur des milliers et des milliers d'enfants et a donné les résultats les plus encourageants.

La vaccination par le B C G est répandue actuellement dans le monde entier ; et il ressort des statistiques effectuées jusqu'à ce jour que l'efficacité de la méthode ne saurait faire aucun doute.

En résumé, au cours de cette étude historique des essais de vaccination antituberculeuse, nous avons été frappée par la diversité et l'inégalité des résultats obtenus.

Dans le cas de la vaccination par les bacilles morts, en particulier, les techniques demeurent imprécises et les résultats se trouvent souvent contradictoires.

Dans leur ensemble, les conditions d'expérience ne nous paraissent pas favorables à l'obtention d'un bon vaccin. On sait, en effet, la difficulté avec laquelle le bacille de KOCH se développe en culture sur les milieux usuels ; l'addition de glycérine favorise son développement qui demeure toutefois très lent sur bouillon ou sur pomme de terre glycinée à 5 %.

En milieu liquide, les bacilles poussent soit en voile à la surface du milieu, soit en formant des grumeaux dans toute la masse du liquide, alors que les cultures sur milieu solide offrent un aspect fortement grumeleux ; elles s'émulsionnent difficilement par les procédés habituels, et l'on doit avoir recours, pour obtenir des émulsions homogènes, à des techniques spéciales de broyage ou d'agitation en présence de perles de verre.

Les difficultés de culture et d'émulsion du bacille tuberculeux suffisent à expliquer, à notre avis, pas mal d'insuccès.

La vaccination par les bacilles morts a été effectuée, en général, à partir de cultures âgées de quatre à six semaines. A ce stade, les corps microbiens ont élaboré une forte proportion de lipoides et de protéines toxiques ; certains d'entre eux ne sont déjà plus que des « cadavres de bacilles ». Leur pouvoir vaccinant est faible, dans l'ensemble, alors que leur pouvoir toxique est très élevé. En 1931, par suite de circonstances particulièrement favorables, nous avons été amenée à reprendre,

sur des données nouvelles et très précises, l'étude de la vaccination antituberculeuse par les bacilles morts.

Parallèlement aux recherches chimiothérapiques effectuées au laboratoire de microbiologie de notre Faculté depuis de nombreuses années, quelques essais de vaccination antituberculeuse avaient déjà été ébauchés par Mlle M. MATHIEU (1931) (1), puis par nous-même dans une série d'expériences que nous relaterons brièvement dans un prochain chapitre.

Mlle M. MATHIEU met au contact du bleu de Nil (chlorhydrate), pendant quinze jours à la glacière, des bacilles tuberculeux bovins virulents âgés d'un mois qui sont ensuite lavés plusieurs fois à l'eau distillée, puis remis en suspension dans le sérum physiologique stérile.

Injecté à des lapins, à titre préventif et curatif mais toujours à des doses relativement peu élevées, le vaccin ainsi obtenu a donné des résultats intéressants : faible étendue des lésions tuberculeuses pulmonaires qui tendent vers la forme fibreuse ; encerclement des lésions rénales par du collagène, abondamment sécrété par de très nombreux fibroblastes.

Reprenant ces expériences, nous avons utilisé, à titre préventif seulement chez le lapin, divers vaccins constitués par des bacilles tuberculeux bovins, virulents ou avirulents, provenant de souches âgées d'un mois environ et tués par divers procédés physiques ou chimiques.

Enfin, en 1931, nous avons pu établir notre expérimentation sur de nouvelles bases, en utilisant de jeunes cultures de bacilles tuberculeux, riches en protoplasma, renfermant peu de lipoides toxiques et dépourvus de tuberculine.

Les résultats de nos recherches sont consignés dans le présent travail. Certes, les moyens dont nous disposions ne nous ont point permis de solutionner définitivement un problème aussi complexe ; toutefois, grâce à la précision des techniques mises en œuvre au cours de notre expérimentation sur les animaux de laboratoire, nous avons pu suivre avec une certaine précision le mécanisme de l'immunité antituberculeuse.

(1) Cf. MATHIEU (Mlle M.), thèse doctorat en Pharmacie, Montpellier 1931.

CHAPITRE PREMIER

MÉTHODES ET TECHNIQUES

Nous avons groupé, dans ce premier chapitre de notre travail, les diverses méthodes de recherche et les techniques spéciales que nous avons employées au cours de notre expérimentation.

Nous exposerons successivement :

I. — L'origine et les caractères de la souche bacillaire utilisée dans nos essais de vaccination.

II. — Les techniques d'émulsion et de numération des bacilles tuberculeux appliquées soit à la préparation des émulsions vaccinales, soit à la préparation des émulsions bacillaires destinées aux inoculations virulentes d'épreuve.

III. — Les techniques sérologiques (agglutination, déviation du complément) permettant de déceler, chez les animaux en expérience, la présence et le taux des anticorps spécifiques.

IV. — Les techniques de fixation et de coloration des pièces destinées aux examens histologiques.

I. — Origine et caractères de la souche de bacilles tuberculeux utilisée dans nos essais de vaccination.

La souche de bacilles de KOCH que nous avons utilisée au cours de notre expérimentation provenait, à l'origine, d'une souche homogène de bacilles de KOCH, type humain, de S. ARLOING. Celle-ci avait été envoyée au laboratoire il y a plusieurs années par M. le professeur F. ARLOING ; elle avait été repiquée régulièrement tous les mois sur le milieu liquide de S. ARLOING et P. COURMONT.

La composition de ce milieu est la suivante :

Peptone	20 gr.
Chlorure de sodium	10 gr.
Glycérine	50 gr.
Eau distillée	1000 cm ³ .

On le prépare en dissolvant à feu doux le sel et la peptone dans l'eau distillée ; on ajoute ensuite la glycérine, on filtre sur papier et l'on neutralise au papier de tournesol par addition d'une solution de soude à 1 %. On filtre à nouveau et l'on répartit le milieu de culture en fioles d'ERLENMEYER ; enfin, on stérilise à 115° pendant 25 minutes.

En mars 1931, Mme G. HOLLANDE, au cours de recherches sur la cytologie microbienne, eut l'occasion de repiquer une souche homogène, âgée de deux mois environ, sur gélose de SABOURAUD glucosée à 1 % et renfermant 1/20^e de sérum de bœuf tyndallisé. La souche initiale était devenue, par vieillissement, visqueuse et filante ; l'examen microscopique, après coloration, révélait la présence de nombreuses formes ramifiées de bacille tuberculeux (1).

(1) Cf. A.-Ch. HOLLANDE et Mme G. HOLLANDE, *Etude cytologique de quelques microbes pathogènes à l'homme ; leurs cycles évolutifs*, 1932, pages 550 et suivantes.

Préparation de la gélose de SABOURAUD.

Le milieu est constitué par :

Glucose	10 gr.
Peptone	10 gr.
Gélose	18 gr.
Eau de source	1000 cm ³ .

La gélose est mise à macérer pendant 12 heures dans l'eau. On ajoute ensuite le glucose et la peptone et l'on porte à l'autoclave à 120°. Lorsque cette température est atteinte, on éteint l'autoclave et l'on filtre à chaud, sur filtre CHARDIN, après agitation de la masse. On répartit en tubes et l'on stérilise à 115° pendant 25 minutes.

Pour l'addition du sérum de bœuf au milieu de culture, il suffit de liquéfier au moment du besoin la gélose en portant les tubes au bain-marie. Après refroidissement jusqu'au voisinage de 50°, on ajoute aseptiquement 0 cm³ 5 de sérum de bœuf tyndallisé pour 10 cm³ de milieu de culture. On mélange aussi complètement que possible en roulant les tubes entre les mains ; on laisse solidifier, les tubes étant placés en position inclinée.

Sur ce milieu, les bacilles de KOCH se développèrent abondamment en quelques jours. Par la suite, la souche fut repiquée sur gélose de SABOURAUD sans sérum de bœuf mais additionnée de glycérine dans la proportion de 5 %.

Après une série de repiquages effectués tous les quatre ou cinq jours sur gélose de SABOURAUD glycinée à 5 %, la souche microbienne, parfaitement adaptée aux nouvelles conditions de culture, put être repiquée tous les trois jours à partir du mois de février 1932.

Caractères de la souche microbienne.

Le développement de la culture, comme nous venons de l'indiquer, est particulièrement rapide sur gélose de SABOURAUD. Le bacille se multiplie activement sur ce milieu en donnant une strie lisse, d'un blanc crémeux, qui, par vieillissement, se plisse

et présente parfois une pigmentation jaune orangé plus ou moins intense.

Les bacilles jeunes s'émulsionnent très facilement dans l'eau physiologique, sans addition de carbonate de soude ; et les émulsions obtenues sont remarquables par leur parfaite stabilité.

Nous devons noter que cette souche microbienne s'apparente plus ou moins, par l'aspect des cultures, à la souche du type S (souche lisse) des auteurs.

DENYS (1933) a démontré en effet la possibilité de dissocier les souches homogènes de bacilles de KOCH en types S (colonies lisses) et R (colonies rugueuses) ; les bacilles du type S seraient, d'après l'auteur, généralement plus virulents que ceux du type R.

A. SAENZ et L. COSTIL (1934) ont obtenu eux aussi la dissociation de souches de bacilles tuberculeux des mammifères en deux types S et R ; les colonies du type R seules seraient tuberculigènes.

Au point de vue cytologique, colorés par la technique de ZIEHL-NEELSEN, les bacilles de notre souche microbienne au stade jeune de leur développement sont faiblement acido-résistants ; ils présentent en leur milieu un ou deux granules fortement acido-résistants.

Par la coloration aux éosinates de bleu de méthylène de A.-Ch. HOLLANDE, après fixation à l'alcool-éther-xyloï selon la technique de A.-Ch. HOLLANDE et Mme G. HOLLANDE (1932) (1), les bacilles présentent un protoplasme cyanophile renfermant un ou deux para ou métanucléosomes — ces derniers anciennement dénommés par les auteurs métachromatinosomes (2). Un tel bacille à un stade jeune, riche en protoplasme, s'émulsionnant très facilement — ce qui indiquait de prime abord une faible teneur en substances grasses — présentait un réel intérêt au point de vue de la vaccinothérapie antituberculeuse.

(1) Cf. A.-Ch. HOLLANDE et Mme G. HOLLANDE, *Etude cytologique de quelques microbes pathogènes à l'homme ; leurs cycles évolutifs*, 1932, pages 455 et suivantes.

(2) Cf. fig. 65, 66, 67, 68, planche VIII du même ouvrage.

II. — Techniques d'émulsion et de numération.

I^o MODE DE PRÉPARATION DES ÉMULSIONS VACCINALES.

A partir d'une souche émulsionnable de bacilles tuberculeux, nous avons pu aisément préparer des suspensions microbiennes homogènes et stables en liquide physiologique ; celles-ci furent ensuite traitées par divers agents physiques ou chimiques, en vue de l'obtention des différents vaccins que nous avons utilisés au cours de notre expérimentation.

Pour la préparation des vaccins à base de bacilles de KOCH non dégraissés, l'émulsion ne présentait aucune difficulté et pouvait être effectuée directement dans l'eau physiologique stérile à 7 gr. 5 de NaCl. 0/100.

Par contre, la préparation des vaccins à base de bacilles de KOCH dégraissés a nécessité une technique spéciale. La culture, prélevée à l'anse de platine, est déposée par petites quantités dans un tube de verre épais (genre éprouvette à gaz) stérile, renfermant des perles de verre ; par agitation, on répartit aussi uniformément que possible la culture à la surface des perles. On laisse dessécher à l'étuve à 37° pendant une heure et l'on ajoute un volume suffisant du solvant choisi (éther par exemple), que l'on peut ensuite décanter à la pipette à boules lorsque le temps de contact est écoulé. Après évaporation du solvant à l'étuve à 37°, on reprend par l'eau physiologique stérile, goutte à goutte au début, en agitant pour homogénéiser, puis plus rapidement. On abandonne au repos pendant une heure environ pour laisser déposer les gros paquets microbiens ; on décante le liquide surnageant homogène à l'aide d'une pipette à boules stérile.

La concentration des différentes émulsions est obtenue par comparaison avec un test d'opalescence, préalablement numéré selon la technique de coloration au bleu de Nil de A.-Ch. HOLLANDE et Mlle G. CRÉMIEUX (1928) que nous exposerons ultérieurement.

2^o MODE DE PRÉPARATION DES ÉMULSIONS FACILLAIRES DESTINÉES AUX INOCULATIONS VIRULENTES.

Nous avons utilisé au cours de nos expériences deux souches de bacilles tuberculeux virulents :

a) Une souche virulente de bacilles tuberculeux du type bovin (souche VALLÉE) ;

b) Une souche virulente de bacilles tuberculeux du type humain (souche RATTI).

La première nous a servi à tuberculiser le lapin ; la deuxième a été utilisée pour l'inoculation du cobaye.

L'une et l'autre étaient entretenues au laboratoire depuis plusieurs années par des repiquages successifs effectués tous les mois sur pomme de terre glycinée à 5 %.

Les émulsions de bacilles de KOCH virulents destinées à l'inoculation des animaux ont été préparées suivant la technique de A.-Ch. HOLLANDE et Mlle G. CRÉMIEUX (1928).

A) Préparation de l'émulsion microbienne.

Dans un tube de verre épais (genre éprouvette à gaz), on introduit une dizaine de perles de verre ; on stérilise le tout au four PASTEUR.

A l'aide d'une pipette PASTEUR stérile, on laisse tomber dans le tube quelques gouttes d'une solution aqueuse stérile de carbonate de soude à 0 gr. 10 %/100. On dépose alors au contact des perles une petite quantité de culture de bacilles de KOCH, prélevée sur pomme de terre glycinée. On agite fortement pour homogénéiser ; on ajoute ensuite, goutte à goutte au début, puis plus rapidement, 8 à 10 cm³ de la solution stérile de carbonate de soude et l'on agite encore pendant cinq minutes environ. L'émulsion microbienne étant bien homogène, on laisse déposer pendant une demi-heure et l'on opère une première décantation qui permet d'éliminer les gros paquets microbiens. On abandonne à nouveau au repos pendant douze heures à la

glacière à $+ 4^{\circ}$; on décante une deuxième fois à la pipette à boules (élimination des petits amas microbiens). Sur l'émulsion obtenue on procède à la numération.

B) *Numération directe des bacilles de KOCH
par la méthode de coloration au bleu de Nil.*

On introduit dans un tube à hémolyse 1 cm^3 d'émulsion bacillaire qu'on stérilise à l'autoclave à 120° pendant 25 minutes. Après refroidissement, on ajoute 1 cm^3 d'eau distillée renfermant II gouttes d'une solution aqueuse *très récente* de chlorhydrate de bleu de Nil Grüber (1) à 0 gr. 50 % (pipette PASTEUR donnant quarante gouttes au centimètre cube). On mélange intimement par agitation au fil de platine ; après un quart d'heure de contact, une goutte du mélange est déposée dans la cellule de l'hématimètre de MALASSEZ et recouverte d'un couvre-objet.

Au microscope, les bacilles, qui apparaissent colorés en bleu, peuvent être aisément dénombrés à condition qu'il n'y en ait pas plus de cinq à six par petit carré du quadrillage de l'hématimètre. Au cas contraire, il suffit de diluer le liquide en ajoutant une proportion convenable d'eau distillée renfermant II gouttes de chlorhydrate de bleu de Nil à 0 gr. 50 % par centimètre cube.

Après avoir dénombré les bacilles dans un certain nombre de rectangles de l'hématimètre afin d'obtenir une moyenne, on procède aux calculs de numération selon la technique habituelle pour connaître le nombre de bacilles contenus dans 1 cm^3 de l'émulsion primitive.

Il suffit alors de ramener l'émulsion à la concentration voulue, en pratiquant une série de dilutions dans le sérum physiologique stérile à 9 gr. de NaCl $\frac{0}{100}$.

Remarque. — La présence de carbonate de soude, qui facilite l'émulsion, peut présenter certains inconvénients.

(1) Il importe d'utiliser un bleu de Nil très soluble dans l'eau et non précipitable.

En effet, les sels du bleu de Nil donnent des solutions bleues en milieu neutre ou acide, rouge brique en milieu alcalin.

Les sels fournis par le commerce ont en général conservé une légère acidité, suffisante pour neutraliser l'alcalinité de l'émulsion microbienne et éviter le virage de la solution colorante au moment de la numération.

Dans certains cas, toutefois, nous avons eu affaire à des sels (chlorhydrate de bleu de Nil Grüber) exempts d'acidité ; nous avons remédié à cet inconvénient en acidifiant faiblement, par l'acide chlorhydrique à 1 %, la dilution de chlorhydrate de bleu de Nil, avant de l'ajouter à l'émulsion microbienne — il a suffi en général d'ajouter 1 goutte d'acide chlorhydrique à 1 % pour 1 cm³ de dilution de bleu de Nil.

Ainsi que nous l'avons précédemment indiqué, la technique de coloration au bleu de Nil nous a servi à numérer le test d'opalescence destiné à établir, par comparaison, la concentration des émulsions vaccinales ; en vue de la numération, cette émulsion type doit être effectuée en eau carbonatée et non en sérum physiologique, car en effet les solutions de chlorhydrate de bleu de Nil présentent l'inconvénient de flocculer au contact des solutions de chlorure de sodium.

Nous devons noter, d'autre part, qu'après un certain nombre de repiquages sur le milieu de SABOURAUD glyciné à 5 %, la souche de bacilles de KOCH utilisée acquiert parfois la propriété de s'agglutiner spontanément au contact de la solution de bleu de Nil — ce qui rend toute numération impossible par la technique que nous venons de mentionner.

Or, les procédés ordinaires de numération des microbes après coloration par les couleurs d'aniline ne sont pas applicables aux bacilles de KOCH car ceux-ci sont toujours plus ou moins agglutinables en présence des solutions colorantes usuelles (bleu de méthylène, fuchsine, etc.).

Dans ces conditions, nous avons procédé à la numération directe des bacilles en utilisant la méthode suivante : à partir de l'émulsion bacillaire en eau carbonatée, nous opérons une

dilution au tiers dans la solution iodo-iodurée de LUGOL et nous laissons une demi-heure en contact. Examinés à l'hématimètre de MALASSEZ, les bacilles apparaissent très réfringents ; ils se détachent assez nettement sur le fond coloré en jaune par l'iode et peuvent dès lors être dénombrés.

Nous devons faire remarquer toutefois que cette technique, qui nous a été précieuse dans certains cas, n'offre pas la précision rigoureuse de la technique de coloration au bleu de Nil. On peut également numérer les bacilles à l'hématimètre placé directement sur fond noir (ultra-microscope) ou au Polychromax de ZEISS.

III. — Techniques sérologiques.

Au cours de notre expérimentation sur les animaux, nous avons jugé intéressant de suivre le taux des anticorps (agglutinines et sensibilisatrices) qui apparaissent dans le sang circulant, du fait de l'infection tuberculeuse ou du fait de la vaccination préventive ou curative par les bacilles morts. Nous avons eu, par conséquent, à rechercher les anticorps, soit chez les animaux sains ou tuberculeux traités par les divers vaccins, soit chez les animaux tuberculeux témoins.

Nous ne décrivons pas ici les techniques diverses employées par les auteurs pour la recherche des agglutinines et des sensibilisatrices, ceci ayant fait récemment l'objet d'un travail spécial au laboratoire de microbiologie de notre Faculté (1).

Qu'il nous suffise de rappeler que S. ARLOING et P. COURMONT (1898) obtinrent, par agitation de cultures en milieu liquide, des souches de bacilles de KOCH homogènes et agglutinables. Pour le séro-diagnostic, les auteurs préconisaient l'emploi de cultures de huit à dix jours en eau peptonée glycinée, ou

(1) Cf. CAMBOULIVES (Mlle E.), thèse doctorat en Pharmacie, Montpellier, 1934.

mieux, de cultures âgées de quatre à six semaines, conservées à la glacière, et qu'il suffisait de diluer au moment de l'emploi. Ce dernier procédé permettait d'avoir, sous un faible volume, une grande quantité de substance agglutinable ; toutefois, les cultures âgées de quelques jours seulement, moyennement troubles, convenaient mieux à la séro-réaction.

Nous devons noter ici que lorsque S. ARLOING et P. COURMONT commencèrent à utiliser les cultures homogènes du bacille de KOCH pour le séro-diagnostic de la tuberculose, divers auteurs signalèrent qu'il était préférable de ne tenir compte que des résultats positifs observés avant la sixième heure. En effet, d'après MONGOUR et BUARD (1899), après ce laps de temps tous les sérums seraient susceptibles d'agglutiner plus ou moins les cultures du bacille de KOCH.

Parallèlement à la réaction d'agglutination, la méthode de la déviation du complément a été utilisée pour le diagnostic de la tuberculose. Parmi les principaux antigènes tuberculeux utilisés, nous citerons celui de CALMETTE et MASSOL (1909-1911), celui de BESREDKA (1913), préparé à partir d'une culture de bacilles tuberculeux sur un milieu à base d'œuf de poule ; enfin, l'antigène méthylique de L. NÈGRE et A. BOQUET (1920) qui est un extrait alcoolique de bacilles tuberculeux, riche en phosphatides.

Ayant vérifié que la souche homogène de S. ARLOING, adaptée aux nouvelles conditions de culture sur milieu de SABOURAUD glycérimé à 5 %, conservait son agglutinabilité, nous avons mis au point, sur les conseils de M. le professeur A.-Ch. HOLLANDE, une nouvelle méthode de recherche des agglutinines et des sensibilisatrices en présence d'un bacille de KOCH émulsionnable (1).

1^o PRÉPARATION DE L'ÉMULSION MICROBIENNE DESTINÉE AUX RÉACTIONS D'AGGLUTINATION ET DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT.

L'émulsion bacillaire destinée aux réactions sérologiques est

(1) Cf. HOLLANDE (A.-Ch.) et PENN (Mlle J.), Méthode de recherche des agglutinines et des sensibilisatrices en présence d'un bacille de KOCH émulsionnable. (*C. R. Soc. Biol.*, 24 juin 1933, t. CXIII, p. 889.)

effectuée à partir d'une culture de bacilles de KOCH (souche humaine homogène d'ARLOING) âgée de 48 heures à trois jours sur milieu de SABOURAUD glycérimé à 5 %. Ces microbes représentent les stades dits « formes jeunes » du bacille tuberculeux.

Comme nous l'avons précédemment indiqué, la souche utilisée présente l'avantage de s'émulsionner dans le sérum physiologique avec une extrême facilité. Il suffit pour cela de déposer sur la paroi du tube et un peu au-dessus du niveau du liquide une parcelle de culture que l'on étale légèrement à l'aide de l'anse de platine ; on agite ensuite très lentement le tube en le roulant entre les mains.

Les émulsions obtenues par ce procédé demeurent homogènes et stables pendant plusieurs jours. Leur concentration est obtenue par comparaison avec un test d'opalescence titrant 40 millions de bacilles par centimètre cube. L'opalescence de ce test avait été établie par tâtonnements de façon à permettre la lecture facile de l'agglutination ; la numération en avait été effectuée suivant la technique de coloration au bleu de Nil précédemment indiquée.

Nous avons toujours utilisé, dans nos séro-réactions, des émulsions de bacilles tuberculeux à l'état vivant.

2^o TECHNIQUE DE LA RECHERCHE DES AGGLUTININES.

a) *Obtention des sérums.*

Le sang des animaux immunisés était prélevé par ponction de la veine marginale de l'oreille, à l'aide d'une aiguille à biseau court et d'une seringue stériles. Le sang recueilli en tube stérile était abandonné à la glacière à + 4° jusqu'au lendemain. Le sérum ayant exsudé était alors recueilli à la pipette.

b) *Dilution des sérums.*

Dans une première série de tubes à hémolyse, des dilutions croissantes sont effectuées par addition, au sérum à examiner, d'eau physiologique stérile à 7 gr. 50 de NaCl 0/100. Les taux de dilution ont varié, suivant le cas, de 1/2 à 1/30 au cours de notre expérimentation.

c) *Réaction d'agglutination.*

Dans une deuxième série de tubes à hémolyse, nous introduisons une quantité fixe d'émulsion microbienne (cinquante gouttes d'une pipette PASTEUR donnant cinquante gouttes au centimètre cube). Nous ajoutons alors dans le premier tube une goutte de sérum pur, dans les tubes suivants une goutte des dilutions croissantes au $1/2$, au $1/3$, au $1/4$, au $1/5$, etc. Nous obtenons ainsi des taux de dilution oscillant entre $1/50$ et $1/1500$.

Pour les taux compris entre $1/10$ et $1/50$, nous établissons la réaction dans une série de tubes à hémolyse renfermant une quantité fixe d'émulsion ($0\text{ cm}^3 9$) à laquelle nous ajoutons $0\text{ cm}^3 1$ de sérum pur pour le premier tube, $0\text{ cm}^3 1$ des dilutions au $1/2$, au $1/3$, au $1/4$, au $1/5$ pour les tubes suivants ; ce qui donne, comme dilutions définitives, les taux de :

$1/10$ $1/20$ $1/30$ $1/40$ $1/50$

Nous portons les tubes, maintenus droits, à l'étuve à 37° , parallèlement avec un tube témoin renfermant cinquante gouttes d'émulsion microbienne.

Une première lecture peut être effectuée une heure après, mais les résultats sont beaucoup plus nets à partir de la sixième heure et jusqu'à la vingt-quatrième heure.

Dans les cas de réactions fortement positives, la lecture ne présente aucune difficulté ; les bacilles étant agglutinés au fond du tube, le liquide surnageant est parfaitement clair.

Pour les réactions faiblement positives, l'examen sur fond sombre permet à un œil exercé de voir de fins paquets microbiens en suspension dans le liquide, que l'on peut, du reste, examiner à une loupe de faible grossissement.

Nous n'avons tenu compte que des réactions positives macroscopiquement. Nous avons exprimé les résultats, suivant l'intensité plus ou moins grande de la réaction, par les signes suivants :

+	+	+	+	+	pour une agglutination totale ;
+	+	+	+	—	pour une agglutination presque totale ;
+	+	+	—	—	} pour des agglutinations faibles ;
+	+	—	—	—	

+ — — — — pour une agglutination très faible ;
— — — — — pour une agglutination nulle.

Au cours de nos divers examens et contrairement aux observations de MONGOUR et BUARD (1899) sur les cultures homogènes, nous n'avons pas constaté d'agglutination spontanée des bacilles tuberculeux au contact des sérums au bout d'un certain temps (cas des sérums normaux et des sérums négatifs).

Il est évident que notre technique présente sur celle d'ARLOING et COURMONT l'avantage d'utiliser des émulsions de bacilles ayant poussé sur un milieu solide, ce qui permet d'éliminer certains éléments nutritifs du milieu de culture (peptone par exemple) qui peuvent gêner au cours de la réaction.

D'autre part, nous avons toujours constaté, dans le tube témoin, la parfaite stabilité de l'émulsion microbienne, même après un séjour prolongé à l'étuve à 37°.

Notre technique nous paraît donc à l'abri des causes d'erreur signalées encore tout récemment par J. VAN BENEDEN (1932) qui exprime comme il suit sa méfiance vis-à-vis des réactions d'agglutination en tuberculose : « Les cultures du bacille de la tuberculose sont très difficilement émulsionnables. Les suspensions bacillaires ne restent guère homogènes que dans les instants qui suivent leur préparation. Cette sorte d'agglutination spontanée des bacilles de KOCH est bien connue des bactériologistes ; c'est en elle qu'il faut voir une des raisons majeures de la faillite des épreuves diagnostiques d'agglutination dans la tuberculose. »

3° TECHNIQUE DE LA RECHERCHE DES SENSIBILISATRICES PAR LA MÉTHODE DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT.

Parallèlement à la recherche des agglutinines, nous avons effectué, dans le sérum des animaux traités, la mise en évidence des sensibilisatrices par la méthode de déviation du complément (technique de CALMETTE et MASSOL). Nous avons utilisé comme antigène tuberculeux et parallèlement :

1° L'antigène méthylique de L. NÈGRE et A. BOQUET.

2° Une émulsion de bacilles tuberculeux vivants identique à celle qui nous servait à la recherche des agglutinines.

La technique de CALMETTE et MASSOL est basée sur l'emploi de quantités fixes d'antigène tuberculeux et de sérum renfermant les anticorps présumés, en présence de quantités croissantes d'alexine à partir de la dose minima active permettant d'obtenir l'hémolyse. D'autre part, CALMETTE et MASSOL indiquent d'utiliser, pour la réaction d'hémolyse, 10 doses minima actives de sérum hémolytique. Il importe donc d'opérer le titrage préalable de l'alexine et celui du sérum hémolytique.

a) *Préparation des hématies.*

Dans un ballon stérile renfermant des perles de verre, on recueille du sang de mouton que l'on agite au début pendant un certain temps afin de le défibriner. Le sang défibriné est centrifugé ; après décantation, le sérum est remplacé par de l'eau physiologique à 9 gr. de NaCl pour 1000. On centrifuge à nouveau, on décante le liquide surnageant que l'on remplace par du sérum physiologique, et l'on effectue ainsi trois lavages successifs. Après la dernière centrifugation, le liquide surnageant est décanté. Il suffit alors de prélever 1 cm³ du culot d'hématies et de le diluer dans 19 cm³ d'eau physiologique. On obtient ainsi une émulsion d'hématies à 5 % qui sera utilisée, dans la réaction d'hémolyse, à la dose de deux gouttes d'une pipette PASTEUR donnant trente gouttes au centimètre cube.

b) *Obtention et titrage du sérum hémolytique.*

Le sérum anti-globules rouges de mouton est préparé en injectant à plusieurs reprises (en général quatre fois), tous les six jours, à un lapin, des hématies lavées de mouton.

Le sang est recueilli cinq jours après la dernière injection, par saignée de l'animal à l'artère carotide ; le sérum ayant exsudé du caillot est recueilli aseptiquement et inactivé par chauffage à 56° pendant une demi-heure.

Le titrage est effectué en mettant en présence d'une quantité

fixe d'alexine en excès et de globules rouges de mouton, des doses croissantes de sérum hémolytique dilué au 1/100, comme l'indique le tableau ci-dessous.

TITRAGE DU SÉRUM HÉMOLYTIQUE

Sérum hémolytique dilué au 1/100	Alexine au 1/15	Sérum physiologique à 9 ‰	Hématies à 5 ‰	Lecture	
				1/4 h à 37°	1/2 h. à 37°
0 cc. 05	0 cc. 5	1 cc. 95	II gouttes	H ^o	Hp
0 cc. 1	0 cc. 5	1 cc. 9	II —	Hp	H ^t
0 cc. 2	0 cc. 5	1 cc. 8	II —	H ^t	H ^t
0 cc. 3	0 cc. 5	1 cc. 7	II —	H ^t	H ^t
0 cc. 4	0 cc. 5	1 cc. 6	II —	H ^t	H ^t
0 cc. 5	0 cc. 5	1 cc. 5	II —	H ^t	H ^t
0 cc. 6	0 cc. 5	1 cc. 4	II —	H ^t	H ^t
Tube témoin de l'alexine					
	0 cc. 5	2 cc.	II —	H ^o	H ^o
Tube témoin du sérum hémolytique					
0 cc. 6		1 cc. 9	II —	H ^o	H ^o

La dose de 0 cm³ 1 de sérum hémolytique dilué au 1/100 est ici la dose minima active, c'est-à-dire celle qui détermine l'hémolyse partielle au quart d'heure, l'hémolyse totale à la demi-heure.

La dose à utiliser dans la réaction sera 0 cm³ 1 de sérum hémolytique dilué au 1/10, soit 10 doses minima actives.

c) Préparation et titrage de l'alexine.

Le sang de cobaye est recueilli par ponction cardiaque, puis

centrifugé. Le sérum frais est recueilli par décantation à la pipette et dilué dans l'eau physiologique à 9 gr. de NaCl.^o/100. Le titrage est effectué suivant les indications mentionnées au tableau ci-dessous.

TITRAGE DE L'ALEXINE

Alexine au 1/15	Sérum physiologique à 9 ‰		Sérum hémolytique au 1/10	Hématies à 5 ‰	Lecture	
					1/4 h. à 37°	1/2 h. à 37°
0 cc. 05	2 cc. 45	1 h. à 37°	0 cc. 1	II gouttes	H ^o	Hp
0 cc. 1	2 cc. 4		0 cc. 1	II —	<u>Hp</u>	<u>H^t</u>
0 cc. 2	2 cc. 3		0 cc. 1	II —	H ^t	H ^t
0 cc. 3	2 cc. 2		0 cc. 1	II —	H ^t	H ^t
0 cc. 4	2 cc. 1		0 cc. 1	II —	H ^t	H ^t
0 cc. 5	2 cc.		0 cc. 1	II —	H ^t	H ^t
Tube témoin de l'alexine						
0 cc. 5	2 cc.	.		II —	H ^o	H ^o
Tube témoin du sérum hémolytique						
	2 cc. 5		0 cc. 1	II —	H ^o	H ^o

Soit ici 0 cm³ 1 la dose minima active d'alexine diluée au 1/15.

Remarque. — Selon les indications de CALMETTE, on a intérêt, lors du titrage de l'alexine, à porter pendant une heure à l'étuve à 37° les tubes renfermant l'alexine additionnée de sérum physiologique, avant d'ajouter le système hémolytique ; ceci afin d'opérer dans des conditions parallèles à celles de la réaction de CALMETTE-MASSOL. L'alexine, en effet, perd environ la moitié

de sa valeur pendant le séjour d'une heure à 37°, en présence de l'antigène et du sérum renfermant les anticorps (premier temps de la réaction de CALMETTE-MASSOL).

d) *Préparation des antigènes.*

L'antigène méthylique de L. NÈGRE et A. BOQUET est un extrait de phosphatides du bacille tuberculeux dans l'alcool méthylique. Il est préparé à partir de cultures de bacilles humains et bovins sur bouillon glycérimé, âgées de six semaines, que l'on stérilise pendant 30 minutes à 120°. Les bacilles sont filtrés sur papier et mélangés à parties égales, puis lavés sur le filtre à l'eau distillée, desséchés à l'étuve ou dans la cloche à vide. Les bacilles secs sont traités par l'acétone pendant 24 heures (à raison de 1 cm³ d'acétone par centigramme de bacilles), desséchés à nouveau, puis mis à macérer dans l'alcool méthylique à 99° (1 cm³ d'alcool par centigramme de bacilles). On laisse en contact dix à douze jours à 37-38°, en agitant fréquemment, et l'on sépare alors le liquide des corps microbiens par filtration (1).

L'antigène pur doit être dilué au moment de l'emploi. Comme il fournit à froid un précipité qui se dépose sous forme de lamelles blanchâtres, l'antigène est tout d'abord rendu limpide par un séjour de quelques minutes au bain-marie à 50°. On l'additionne alors, goutte à goutte au début, puis plus rapidement, d'eau physiologique stérile à 9 gr. de NaCl 0/100. On utilise, dans la réaction de déviation du complément, 1/20 de cm³ d'antigène pur, soit 1 cm³ de la dilution au 1/20 en eau physiologique, qui présente une légère opalescence.

L'antigène méthylique possède un pouvoir empêchant assez marqué ; celui-ci disparaît, d'après les auteurs, au contact du sérum normal de l'homme et de diverses espèces animales. Nous avons nous-même contrôlé, en présence de sérum normal de

(1) Nous tenons à remercier ici MM. NÈGRE et BOQUET qui nous ont fourni à titre gracieux l'antigène méthylique utilisé dans nos réactions de déviation.

lapin, la disparition du pouvoir anticomplémentaire de l'antigène méthylique. Il n'en sera donc plus question au cours des diverses réactions que nous aurons à exposer par la suite.

e) *Réaction de CALMETTE-MASSOL.*

Les doses minima actives d'alexine et de sérum hémolytique étant connues, la réaction de CALMETTE-MASSOL peut être établie d'après les données suivantes :

On met en présence, dans une série de tubes à hémolyse :
1 cm³ d'antigène tuberculeux (antigène méthylique dilué au 1/20),
0 cm³ 2 du sérum à examiner, inactivé par chauffage à 56° pendant une demi-heure.

L'alexine à doses croissantes à partir de la dose minima active, soit 0 cm³ 1 dans le premier tube, 0 cm³ 2 dans le deuxième tube, etc.

Le volume total est ramené à 2 cm³ 5 dans chaque tube, par addition de sérum physiologique stérile à 9 °/100.

Parallèlement à la réaction, il importe de déterminer, dans une série de tubes témoins, le pouvoir empêchant de l'antigène microbien et celui du sérum inactivé. Les tubes de la réaction et les tubes témoins sont portés une heure à l'étuve à 37°. Nous ajoutons alors, dans chaque tube, 0 cm³ 1 de sérum hémolytique et 11 gouttes d'hématies à 5 %.

La lecture est effectuée après une demi-heure de séjour à l'étuve à 37°.

Les résultats sont exprimés par le rapport $\frac{N}{V}$, N étant le nombre de doses minima actives d'alexine déviées, V représentant le volume de sérum utilisé dans la réaction.

Réaction de CALMETTE-MASSOL, en présence de l'antigène microbien. — Pour rechercher les sensibilisatrices en présence de l'antigène microbien, nous opérons parallèlement aux données qui précèdent, mais en remplaçant l'antigène méthylique de NÈGRE et BOQUET par 1 cm³ d'une émulsion de jeunes bacilles

RÉACTION DE CALMETTE ET MASSOL

Alexine au 1/15	Sérum inactivé à 56°	Antigène tuberculeux	Sérum physiologique à 9 o/100		Sérum hémolytique au 1/10	Hématies à 5 o/10		Lecture 1/2 h à 37°
0 cc. 1	0 cc. 2	1 cc.	1 cc. 2	1 h.	0 cc. 1	II gouttes	1/2 h.	H ^o
0 cc. 2	0 cc. 2	1 cc.	1 cc. 1	à	0 cc. 1	II —	à	H ^o
0 cc. 3	0 cc. 2	1 cc.	1 cc.	37°	0 cc. 1	II —	37°	H ^o
0 cc. 4	0 cc. 2	1 cc.	0 cc. 9		0 cc. 1	II —		Hp
0 cc. 5	0 cc. 2	1 cc.	0 cc. 8		0 cc. 1	II —		H ^t —
Tubes témoins du sérum								
0 cc. 1	0 cc. 2		2 cc. 2		0 cc. 1	II —		Hp
0 cc. 2	0 cc. 2		2 cc. 1		0 cc. 1	II —		H ^t —
0 cc. 3	0 cc. 2		2 cc.		0 cc. 1	II —		H ^t
Tubes témoins de l'antigène microbien								
0 cc. 1		1 cc.	1 cc. 4		0 cc. 1	II —		H ^t —
0 cc. 2		1 cc.	1 cc. 3		0 cc. 1	II —		H ^t
0 cc. 3		1 cc.	1 cc. 2		0 cc. 1	II —		H ^t

de KOCH dans l'eau physiologique stérile, titrant 40 millions de bacilles par centimètre cube.

A cette dose, l'antigène ne présente en général qu'un très faible pouvoir empêchant.

Dans le cas de la réaction figurée dans le tableau précédent, il y aurait 3 doses minima actives d'alexine déviées. Le rapport $\frac{N}{V}$ est égal à $\frac{3}{0,2} = 15$ unités.

IV. — Techniques cytologiques de fixation et de coloration des pièces destinées à l'examen histologique.

1° *Fixation.*

A l'autopsie des divers animaux morts en cours d'expérimentation ou sacrifiés, en fin d'expérimentation, par inhalation de chloroforme, nous avons fixé des fragments d'organes dans le liquide de BOUIN-HOLLANDE (fixateur cupro-picrique-trichloracétique).

Après un séjour dans le fixateur, variant de quatre à sept jours, suivant leur volume, les pièces étaient lavées pendant 24 heures à l'eau formolée (3.°/o), puis conservées dans l'alcool à 75°.

2° *Déshydratation et inclusion.*

Les pièces étaient déshydratées par séjours successifs dans les alcools à 90° et 95°, puis dans l'alcool absolu (24 heures pour chaque alcool en renouvelant le liquide une fois). Après passage dans le toluène (deux bains en 12 heures), puis dans le toluène saturé de paraffine fondant à 56° (12 heures), elles étaient soumises à deux bains successifs de 4 heures chacun dans la paraffine en fusion (paraffine fondant à 56°). Nous pratiquions enfin l'inclusion.

3° *Coloration.*

Les coupes effectuées au microtome, à 4 ou 5 mus d'épaisseur, étaient collées sur lames au moyen d'une colle au blanc d'œuf

et carragahen. Après séchage, elles étaient déparaffinées dans le xylol, collodionnées dans l'alcool-éther à parties égales renfermant 10 % de collodion, puis hydratées dans des alcools à degré décroissant (alcools à 80°, à 75°, à 30°) pour aboutir enfin à l'eau distillée. Nous pratiquons la coloration suivant la technique de A.-CH. HOLLANDE.

Coloration du bacille de KOCH sur les coupes. — La préparation, recouverte de fuchsine de ZIEHL filtrée au moment de l'emploi, est placée sur une platine chauffante ; on chauffe doucement jusqu'à émission de vapeurs abondantes, mais en évitant l'ébullition et la dessiccation, et l'on répète ce chauffage trois fois en cinq minutes. On rejette le colorant, on lave à l'eau ordinaire et l'on différencie pendant 4 à 5 secondes dans l'acide azotique au 1/3. On rince à l'eau et l'on achève la différenciation dans l'alcool à 60° jusqu'à ce que la coupe ne présente plus qu'une teinte rose très pâle, uniforme (soit 10 minutes environ).

La lame, rincée à l'eau distillée, est plongée pendant un quart d'heure dans l'hémalun (1) ; après lavage à l'eau distillée, la différenciation des noyaux est assurée par un séjour de 2 à 3 heures dans l'eau ordinaire ; les coupes, à ce moment, prennent une coloration bleu violacé. On rince alors la lame à l'eau distillée et on la plonge pendant 20 minutes dans une solution aqueuse d'orange G à 0 gr. 50 % ; on lave à nouveau à l'eau distillée ; on différencie pendant 30 secondes dans une solution aqueuse d'acide phospho-molybdique à 0 gr., 50 %. Après lavage à l'eau ordinaire, puis à l'eau distillée, on colore rapidement (12 secondes) dans une solution aqueuse de vert lumière à 0 gr., 12 %. On lave à l'alcool à 95° ; on effectue la déshydratation dans des bains successifs d'alcool amylique (deux bains), d'alcool amylique-xylol à parties égales, enfin de xylol pur (deux bains). Après un dernier lavage au xylol, la préparation est montée au baume du Canada.

(1) Formule de l'hémalun :

Solution d'hématéine à 2 % dans l'alcool à 95° : 50 cm³.
Solution aqueuse d'alun de potasse à 5 % : 500 cm³.

Résultats. — Dans ces conditions, les bacilles de KOCH acido-résistants sont colorés en rouge plus ou moins intense ; les noyaux des cellules sont colorés en bleu violacé par l'hémalum, tandis que le protoplasme a fixé l'orange. Les hématies sont orange vif ; le tissu fibreux (collagène) est coloré en vert par le vert lumière.

CHAPITRE II

ACTION, SUR LE COBAYE ET LE LAPIN, D'UN BACILLE TUBERCULEUX VIVANT AVIRULENT DU TYPE HUMAIN AU STADE JEUNE DE SON DÉVELOPPEMENT

(souche servant à la préparation des émulsions vaccinales).

Nous avons signalé au début de ce travail les essais de vaccination effectués par S. ARLOING en utilisant les cultures homogènes de bacilles tuberculeux humains vivants. Ces bacilles, injectés par voie sous-cutanée ou intraveineuse, ne créent que rarement des lésions folliculaires et produisent chez les animaux de laboratoire une infection généralement bénigne ; ils sont également très bien supportés par les bovidés.

Nous avons jugé intéressant d'étudier, par l'inoculation de bacilles vivants au lapin et au cobaye, les propriétés de notre souche microbienne, sensiblement différente de celle d'ARLOING, formée d'éléments bacillaires au stade « forme jeune de HOLLANDE ». L'état de virulence des bacilles et l'apparition des phénomènes allergiques chez les animaux inoculés ont été plus spécialement recherchés.

On sait que la notion de virulence a pris en tuberculose, au cours des dernières années, une importance capitale ; et il semble être admis aujourd'hui que, si la gravité de l'infection tuber-

culeuse est en fonction du nombre des germes infectants (1), elle dépend aussi de la qualité de ces germes.

C'est ainsi que CALMETTE et ses élèves ont pu inoculer, par voie intraveineuse, des quantités énormes de bacilles B. C. G. avirulents à des lapins sans provoquer de lésions évolutives, alors qu'il suffit d'injecter 50.000 à 100.000 bacilles bovins virulents pour déterminer chez ces animaux une tuberculose mortelle au quatrième ou cinquième mois. Toutefois, les bacilles tuberculeux devenus avirulents ne perdent pas forcément, de ce fait, la propriété de créer, chez l'animal inoculé, l'hypersensibilité à la tuberculine.

Comme nous l'indiquerons ultérieurement, l'organisme sain ne réagit pas aux poisons protéiques du bacille ou tuberculines. Par contre, on voit apparaître à un moment donné, chez l'homme infecté naturellement ou chez l'animal infecté expérimentalement par les bacilles de KOCH, un état particulier de sensibilisation vis-à-vis des protéines bacillaires. C'est à cet état réactionnel qu'on a donné le nom d'allergie. Les manifestations en sont variées : réactions locales (cuti, intradermo, ophtalmo-réactions) ou phénomènes généraux (intoxication générale, hyperthermie).

Il importait donc d'étudier notre souche bacillaire au double point de vue de sa virulence et de son aptitude à créer chez l'animal l'apparition des phénomènes allergiques.

Nos expériences ont porté sur deux séries de cobayes et une série de lapins neufs. Ces animaux ont été inoculés, soit par la voie sous-cutanée (cobaye), soit par la voie veineuse (lapin), avec des doses élevées de bacilles tuberculeux humains vivants (culture de 48 heures à trois jours sur gélose de SABOURAUD glycinée) ; les doses injectées ont varié de 100.000 bacilles à 1 million de bacilles. Nous avons laissé vivre les animaux inoculés pendant une période de plusieurs mois au cours de laquelle nous avons recherché les manifestations de l'état allergique chez

(1) Cf. HOLLANDE (A.-Ch.) et HOLLANDE (Mme G.), *Histogénèse et cytologie du follicule tuberculeux*, 1931, p. 208.

le cobaye, soit en pratiquant l'intradermo-réaction, soit en observant l'élévation thermique consécutive à l'injection de tuberculine.

Chez le lapin, nous avons pu suivre l'apparition des anticorps tuberculeux et plus spécialement des agglutinines dans le sang circulant.

Enfin, nous avons recherché, dans le sang des animaux inoculés, la présence possible de substances bactéricides susceptibles d'entraver le développement du bacille tuberculeux « in vitro ».

En dernier lieu, l'autopsie des animaux en expérience nous a renseignée sur le degré de virulence de notre souche de bacilles tuberculeux.

I. — Expérimentation sur le cobaye.

SÉRIE I.

Le 20 décembre 1932, nous avons procédé à l'inoculation sous-cutanée d'un lot de six cobayes neufs. Trois d'entre eux, les *cobayes* n° 1, n° 2, n° 3 reçurent, sous la peau de la cuisse droite, un demi-centimètre cube d'émulsion renfermant 100.000 bacilles de KOCH (culture de 3 jours sur milieu de SABOURAUD glycérimé) ; les trois autres (*cobayes* n° 4, n° 5, n° 6) furent inoculés avec un demi-centimètre cube d'émulsion microbienne renfermant 500.000 bacilles de la même souche). Des six animaux en expérience, trois (*cobayes* n° 2, n° 3, n° 6) furent atteints d'affection intercurrente mortelle au cours du mois qui suivit l'inoculation ; les *cobayes* n° 1, n° 4, n° 5 vécurent pendant une période s'échelonnant de trois mois à six mois.

Cobaye N° 1.

Inoculé avec 100.000 bacilles le 20 décembre 1932. Mort le 17 mai 1933, après cinq mois de vie utile.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 510 gr. ; poids final : 360 gr. ; perte de poids : 150 gr.

Pas de réaction ganglionnaire appréciable.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — Pas d'hypertrophie des ganglions inguinaux et lombaires.

Poumons : Faiblement hypertrophiés, d'aspect hépatisé, avec quelques points hémorragiques.

Rate : Aspect légèrement granuleux.

Foie et reins : Aspect normal.

Cobaye N° 5.

Inoculé avec 500.000 bacilles le 20 décembre 1932 ; mort le 25 avril 1933, après quatre mois de vie utile.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 580 gr. ; poids final : 330 gr. ; perte de poids : 250 gr.

Au point de vue ganglionnaire, l'animal a réagi très faiblement. Nous avons noté, un mois après l'inoculation, l'existence d'un léger empâtement inguinal précédant l'apparition d'un ganglion dont le volume n'a jamais dépassé celui d'un grain de chanvre et qui a régressé par la suite.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — Aucune hypertrophie ganglionnaire, soit dans la région inguinale, soit dans la région lombaire.

Poumons : Non hypertrophiés, présentant un aspect hémorragique.

Rate, reins, foie : Aspect normal.

Cobaye N° 4.

Inoculé le 20 décembre 1932 avec 500.000 bacilles, sacrifié le 12 juillet 1933 (sept mois de vie utile).

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 430 gr. ; poids final : 400 gr. ; perte de poids : 30 gr.

Pas de réaction ganglionnaire appréciable.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — Absence de ganglions inguinaux et lombaires.

Poumons, rate, reins, foie : Aspect normal.

Avant de sacrifier l'animal, nous l'avions soumis à l'épreuve de la tuberculine en effectuant l'intradermo-réaction de MANTOUX.

A cet effet, le 4 juillet, soit six mois et demi après l'inoculation, nous avons injecté dans le derme du flanc, après dépilation de la peau, $2/10$ de cm^3 de tuberculine de l'Institut PASTEUR, diluée au $1/10$ au moment de l'emploi (1).

Pendant les jours qui suivirent, l'animal ne présenta aucune réaction locale au point de l'injection.

A nouveau, le 11 juillet, après avoir pris à deux reprises la veille la température de l'animal ($37^{\circ}8$ à 10 heures, $38^{\circ}1$ à 17 heures), nous injectons par voie sous-cutanée $1/2 \text{ cm}^3$ de tuberculine diluée au $1/2$. La température est de $37^{\circ}7$ à 11 heures, au moment de l'injection ; elle est de $37^{\circ}9$ à 17 heures et se maintient le lendemain à $37^{\circ}8$ pendant toute la journée.

Parallèlement à l'intradermo-réaction, la réaction thermique est donc, dans ce cas, totalement négative.

Nous indiquerons par la suite que, dans une expérience ultérieure, nous avons pu déceler l'hypersensibilité tuberculinique chez des cobayes, un mois et deux mois et demi après l'inoculation des mêmes bacilles vivants.

SÉRIE II.

Le 14 mars 1934, nous inoculons une nouvelle série de cobayes qui reçoivent respectivement, par voie sous-cutanée, 500.000 bacilles (*cobayes* n° 1 et n° 2) et 1 million de bacilles (*cobayes* n° 3 et n° 4).

Le 17 avril, soit un mois après l'inoculation, nous pratiquons l'intradermo-réaction (injection intradermique de $2/10$ de cm^3 de tuberculine vétérinaire de l'Institut PASTEUR, diluée au $1/10$) chez les *cobayes* n° 2, n° 3, n° 4, parallèlement à un *cobaye témoin* n° 1^a qui avait été tuberculisé le 17 février avec 50.000 bacilles humains virulents (souche RATTI de l'Institut PASTEUR).

(1) On a constaté, en effet, que les dilutions de tuberculine perdaient assez rapidement leur activité.

Nous constatons dès le lendemain que tous les animaux injectés réagissent positivement à la tuberculine (induration entourée d'un halo rosé).

Deux mois et demi après l'inoculation, nous recherchons à nouveau la sensibilité tuberculinique, mais cette fois en observant l'élévation thermique consécutive à l'injection sous-cutanée de tuberculine.

La réaction est effectuée le 5 juin parallèlement chez le *cobaye* n° 2 et chez le *cobaye témoin* n° 1^a. Au préalable, nous avons pris la température rectale pendant plusieurs jours à heure fixe.

Cobaye N° 2.		Cobaye témoin N° 1 ^a	
Le 2 juin :	38°4 à 11 heures	38°3 à 11 heures	
4 juin :	38°8 à 11 heures	38°2 à 11 heures	
—	38°6 à 16 heures	38°4 à 16 heures	
5 juin :	38°4 à 9 heures	38°3 à 9 heures	

Nous injectons alors sous la peau de la cuisse 1/2 cm³ de tuberculine diluée de moitié ; nous prenons la température une première fois, trois heures après l'injection.

Cobaye N° 2	Cobaye témoin N° 1 ^a
5 juin : 38°4 à midi	39°2 à midi

Le cobaye témoin réagit donc positivement dès la troisième heure après l'injection ; il meurt d'ailleurs quelques heures plus tard et son autopsie nous permet de constater que l'intensité de la réaction allergique est ici en relation avec une évolution déjà très avancée des lésions tuberculeuses.

Par contre, chez le cobaye n° 2, la réaction se manifeste plus tardivement :

5 juin : 39°3 à 16 heures,
38°4 à 18 heures.

Elle est particulièrement fugace puisque, neuf heures après l'injection, la température est redevenue normale. A titre de contrôle, nous prenons à nouveau la température le lendemain :

6 juin : 38°3 à 10 heures,
38°5 à 18 heures.

Les *cobayes* n° 1 et n° 3 de cette série sont sacrifiés et autopsiés le 4 juillet 1934, quatre mois environ après l'inoculation.

Les *cobayes* n° 2 et n° 4 que nous avons laissé vivre en vue d'une expérimentation ultérieure sont morts en notre absence et n'ont pu être autopsiés.

Cobaye N° 1.

Inoculé le 14 mars 1934 avec 500.000 bacilles ; tué le 4 juillet 1934.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 675 gr. ; poids final : 660 gr.

Au point de vue ganglionnaire, pas de réaction.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — Absence de ganglions inguinaux et lombaires.

Rate : Non hypertrophiée, mais légèrement granuleuse d'aspect.

Poumons et *foie* : Aspect normal.

Cobaye N° 3.

Inoculé le 14 mars 1934 avec 1 million de bacilles ; tué le 4 juillet 1934.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 545 gr. ; poids final : 610 gr. ; augmentation de poids : 65 gr.

En dehors d'un léger empâtement au niveau de l'aîne, pas de ganglion individualisé.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — Pas de ganglions inguinaux ou lombaires.

Poumons et *foie* : Aspect normal.

Rate : Légèrement granuleuse, sans lésions visibles.

Cobaye N° 2.

Inoculé le 14 mars 1934 avec 500.000 bacilles avirulents ; mort en août 1934.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 660 gr. ; poids à la date du 4 juillet : 695 gr.

Pas de réaction ganglionnaire appréciable à la date du 4 juillet.
Autopsie non effectuée.

Cobaye N° 4.

Inoculé le 14 mars 1934 avec 1 million de bacilles ; mort en août 1934.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 525 gr. ; poids à la date du 4 juillet : 670 gr. ; augmentation de poids : 145 gr.

Pas de réaction ganglionnaire appréciable.

Autopsie non effectuée.

II. — Expérimentation sur le lapin.

Parallèlement aux cobayes de la série I, deux lapins neufs avaient été inoculés le 20 décembre 1932, l'un avec 100.000, l'autre avec 500.000 bacilles humains (voie veineuse).

Le *lapin* n° 1 est mort de maladie intercurrente peu de temps après l'inoculation ; seul le lapin n° 2 a pu nous fournir quelques indications utiles.

Lapin N° 2.

Inoculé le 20 décembre 1932 avec 500.000 bacilles, l'animal est sacrifié le 16 juin 1933, après six mois de vie utile.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 500 ; poids final : 2 kg. 150 ; perte de poids : 350 gr. en six mois.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — Pas de lésions macroscopiques visibles.

Poumons : Non hypertrophiés, faiblement hémorragiques.

RECHERCHE DES ANTICORPS. — a) *Agglutination*. — La réac-

tion d'agglutination a été effectuée à diverses reprises sur le sérum de cet animal.

Premier examen le 21 janvier 1933, soit un mois après l'inoculation :

<i>Dilutions de sérum :</i>	<i>3 h. après</i>	<i>24 h. après</i>
1/25	+ + + + —	+ + + + +
1/50	+ + — — —	+ + + + +
1/100	—	+ + — — —
1/150	—	+ — — — —
1/200	—	—

Examen le 31 mars :

<i>Dilutions de sérum :</i>	<i>3 h. après</i>	<i>24 h. après</i>
1/25	+ + + + —	+ + + + +
1/50	+ + + + —	+ + + + +
1/100	—	+ + — — —
1/150	—	+ — — — —
1/200	—	—

Examen le 16 juin :

<i>Dilutions de sérum :</i>	<i>3 h. après</i>	<i>24 h. après</i>
1/25	—	—
1/50	—	—
1/100	—	—
1/150	—	—
1/200	—	—

b) La réaction de *déviatiou du complément* n'a été effectué qu'une seule fois et tardivement, ceci en raison de la difficulté d'obtention d'une quantité suffisante de sérum chez l'animal qui présentait une très grande viscosité sanguine. La réaction, à la date du 6 mai, soit quatre mois et demi après l'inoculation, s'est montrée négative en présence de l'antigène méthylque et de l'émulsion bacillaire.

c) *Recherche du pouvoir bactéricide du sérum du lapin n° 2.*

L'animal venant d'être sacrifié, soit environ six mois après l'inoculation, nous avons prélevé aseptiquement dans le cœur,

à l'aide d'une seringue stérile, quelques centimètres cubes de sang destinés à un essai du pouvoir bactéricide de ce dernier.

Cet essai a été pratiqué *in vitro* de la manière suivante : dans une série de fioles d'ERLENMEYER renfermant 30 cm³ de milieu de COURMONT, nous avons ajouté respectivement :

1^o 2 cm³ de sang total frais.

2^o 1 cm³ de sérum frais (exsudation de 15 heures).

3^o 1 cm³ de sérum recueilli 24 heures après le prélèvement de sang et tyndallisé à 56° (deux chauffages d'une heure, à 24 heures d'intervalle).

Le 17 juin, nous avonsensemencé ces divers milieux de culture, en même temps qu'une fiole témoin, avec cinq gouttes

Ensemencement le 17 juin	Développement des bacilles tuberculeux		
	2 jours après	5 jours après	10 j. après
<i>Fiolesensemencées B. K. :</i>			
Milieu de culture (témoin)	++ ---	+++ ---	++++ +
Milieu de culture + sang total	++ ---	+++ +	++++ +
— — — + sérum frais	+++ ---	+++ +	++++ +
— — — + sérum tyndallisé	+++ ---	+++ +	++++ +
<i>Témoins nonensemencés :</i>			
Milieu de culture + sérum frais	—	—	—
— — — + sérum tyndallisé	—	—	—

d'une émulsion concentrée de bacilles tuberculeux (souche âgée de trois jours sur gélose de SABOURAUD glycinée).

Parallèlement et comme témoins, deux fioles renfermant 30 cm³ de milieu de culture additionné de 1 cm³ de sérum frais dans l'une, 1 cm³ de sérum tyndallisé dans l'autre, ont été portées à l'étuve à 37°.

Nous consignons les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus, l'intensité plus ou moins grande du développement de la culture étant indiquée par les signes + et —.

L'addition de sang ou de sérum du *lapin* n° 2 au milieu de culture n'a point empêché le développement du bacille de KOCH. Il semblerait au contraire que la présence du sérum ait même eu une action légèrement favorisante sur le développement microbien.

Bien que la date du prélèvement de sang soit assez éloignée de l'époque de l'inoculation et que le sérum ait été, au moment de l'expérimentation, déjà privé de ses anticorps apparents, il y avait lieu, à notre avis, de signaler ces résultats.

CONCLUSIONS

Nous pouvons déduire de cet ensemble d'expériences les conclusions suivantes :

1° La souche de bacilles tuberculeux humains que nous utiliserons ultérieurement comme vaccin est pratiquement avirulente, ou tout au moins très faiblement virulente.

L'inoculation de quantités relativement énormes de ces bacilles ne détermine pas de réactions ganglionnaires appréciables chez le cobaye ni de lésions viscérales macroscopiques chez le cobaye et le lapin. Toutefois, nous avons constaté dans quelques cas une diminution de poids, parfois très accusée chez le cobaye, moins marquée chez le lapin qui est d'ailleurs naturellement réfractaire aux bacilles tuberculeux d'origine humaine.

2° Au point de vue des manifestations de l'allergie (intra-dermo-réaction, élévation thermique), nous avons pu déceler l'hypersensibilité tuberculinique à une date relativement rapprochée de celle de l'inoculation ; nous avons constaté que la réaction se montrait négative si on l'effectuait plusieurs mois après l'inoculation. Il est probable qu'à ce stade les bacilles ont disparu de l'organisme animal.

3° Au point de vue sérologique, nous avons observé chez le

lapin, un mois après l'inoculation, la présence d'agglutinines ; celles-ci, après s'être maintenues à un taux constant, relativement peu élevé, pendant plusieurs mois, avaient complètement disparu au sixième mois. Sans doute faut-il voir là un arrêt de la multiplication du bacille dans l'organisme animal où la résorption des corps microbiens aurait été complète.

Nous ne pouvons conclure au sujet des sensibilisatrices dont la recherche n'a été effectuée qu'une seule fois et à une date assez éloignée de l'époque de l'inoculation, en raison de certaines difficultés d'ordre pratique.

4° Il ne semble pas exister, après un certain temps, dans le sang des animaux inoculés qui ont résisté à l'infection, de substances bactéricides susceptibles d'empêcher le développement du bacille tuberculeux *in vitro*.

Ici encore nous ferons remarquer que l'essai du pouvoir bactéricide du sérum n'a pu être effectué que six mois après l'inoculation, au moment où les anticorps apparents avaient déjà complètement disparu.

CHAPITRE III

RECHERCHES SUR L'ACTION NOCIVE D'UN BACILLE TUBERCULEUX HUMAIN AVIRULENT (stade forme jeune), TUÉ ET DIVERSEMENT TRAITÉ, ET SUR LA PRODUCTION DES ANTICORPS CHEZ L'ANIMAL AU MOYEN DE CE BACILLE.

Nous exposerons, dans la première partie de ce chapitre, les divers traitements chimiques ou physiques auxquels nous avons soumis, pour les tuer, les bacilles tuberculeux provenant de cultures jeunes sur gélose de SABOURAUD glycélinée. Notre but était de diminuer si possible la toxicité des corps bacillaires tout en leur conservant le maximum de leur pouvoir antigénique.

La deuxième partie de ce chapitre sera consacrée à l'étude des effets expérimentaux des bacilles tués sur l'animal neuf, au double point de vue de leur pouvoir nocif et de leur action provocatrice dans la formation des anticorps.

A) Traitements chimiques et physiques des émulsions bacillaires destinées à la préparation des vaccins.

Les émulsions bacillaires obtenues suivant les techniques exposées dans un précédent chapitre ont été modifiées par des agents chimiques divers (formol, halogènes, solvants des corps

gras) et par l'action de la chaleur à une température relativement peu élevée, afin d'éviter une altération brutale du protoplasme bacillaire.

Parmi les préparations vaccinales effectuées, nous distinguons :

- I. Les vaccins à base de bacille de KOCH non dégraissés,
- II. Les vaccins à base de bacilles de KOCH dégraissés.

I. — VACCINS A BASE DE BACILLES NON DÉGRAISSÉS.

1° *Bacilles traités par le trioxyméthylène en solution sulfitée, puis chauffés.*

Les premiers vaccins que nous avons préparés étaient constitués par des bacilles très peu modifiés, simplement tués par l'action d'une solution formolée (trioxyméthylène en solution sulfitée) (1), puis chauffés à une température peu élevée.

VACCIN N° 1. — Nous le préparons en juillet 1931, à partir d'une culture de six jours sur gélose de SABOURAUD glycinée. L'émulsion en sérum physiologique stérile est additionnée de solution sulfitée de trioxyméthylène à raison de 16 ‰, puis répartie en ampoules stériles qui sont ensuite portées à l'étuve à 41°5, une première fois pendant une heure et une deuxième fois, quatre jours après, pendant trois heures.

A ce moment, afin de contrôler la parfaite stérilité de l'émulsion, nous en centrifugeons quelques centimètres cubes ; après décantation du liquide surnageant, nous lavons à l'eau physio-

(1) Trioxyméthylène	10 gr.
Solution de sulfite de sodium anhydre à 5 %	6 cm ³ .
Eau distillée	q. s. pour 100 cm ³ .
Chauffer légèrement au bain-marie jusqu'à dissolution complète.	

Nous avons exposé, dans un précédent travail, que cette solution formolée conservait aux éléments microbiens leurs propriétés antigéniques beaucoup mieux que le formol du commerce à 40 ‰ d'aldéhyde formique.

Cf. Mlle J. PENN, *Neutralisation des toxines et préparation des vaccins par addition de trioxyméthylène en solution sulfitée*. (Thèse de doctorat en Pharmacie, Montpellier, 1928.)

logique stérile le culot microbien obtenu. Après une deuxième centrifugation suivie d'une deuxième décantation, nous émulsionnons à nouveau les bacilles dans l'eau physiologique stérile et nous ensemençons abondamment (xxv gouttes) sur milieu liquide de COURMONT, sur gélose de SABOURAUD glycinée à 5 % et sur milieu solide de PETRAGNANI au vert malachite. Nous vérifions que la culture est négative sur ces divers milieux, même après un séjour de plusieurs semaines à l'étuve à 37°.

Les ampoules renfermant l'émulsion vaccinale sont abandonnées à la température du laboratoire jusqu'au mois d'octobre 1931, soit pendant trois mois environ.

VACCIN N° 2. — L'émulsion bacillaire est effectuée en décembre 1931 à partir d'une culture de cinq jours ; elle est additionnée de solution sulfitée de trioxyméthylène à la dose de 32 ‰ et abandonnée à la température du laboratoire pendant quatre jours. Après répartition en ampoules stériles et un premier chauffage d'une heure et demie à 65°, le vaccin séjourne à l'étuve à 37° pendant dix jours, subit alors un deuxième chauffage d'une heure à 56° et le lendemain un troisième chauffage d'une demi-heure à 56°. La stérilité de l'émulsion est contrôlée, comme dans le cas précédent, après élimination de la solution formolée, par ensemencement sur les divers milieux de culture.

2° *Bacilles successivement traités par divers halogènes (iode ou brome) et par le trioxyméthylène en solution sulfitée, puis chauffés.*

Dans une nouvelle série de préparations vaccinales, nous avons fait précéder l'action du formol de celle de divers halogènes, iode ou brome — ce dernier étant susceptible de saturer certains acides gras non saturés, à poids moléculaire élevé. Nous rappelons également que l'iode en particulier agit sur les toxines microbiennes en diminuant considérablement leur pouvoir toxique.

Vaccin iodé. — L'émulsion bacillaire, préparée cette fois à

partir d'une culture de trois jours seulement obtenue sur milieu solide, est simplement traitée suivant la technique d'iodisation de RANQUE et SENEZ, d'un usage courant dans la préparation des vaccins. L'agent stérilisant est ici constitué par une solution iodo-iodurée dont la formule est la suivante :

Iode.	2 gr.
Iodure de potassium	4 gr.
Eau distillée.....	100 cc.

Elle est ajoutée à la dose de $0\text{ cm}^3 \times 2$ pour 10 cm^3 à l'émulsion bacillaire qui est ensuite décantée à la pipette à boules dans un tube stérile — ceci afin d'assurer le contact de tous les corps microbiens avec la solution stérilisante. Après une demi-heure de contact, il suffit, pour neutraliser l'iode, d'ajouter goutte à goutte et jusqu'à décoloration une solution aqueuse d'hyposulfite de soude à 5 % stérile. L'ensemencement, effectué à ce moment sur divers milieux de culture, nous a montré que ce simple contact d'une demi-heure avec la solution iodo-iodurée suffisait à tuer la forme jeune du bacille tuberculeux.

Par la suite, l'émulsion vaccinale a été traitée par la solution sulfitée de trioxyméthylène dans la proportion de $16\text{ }^{\circ}/_{100}$, puis chauffée une première fois une heure et demi à 65° et portée pendant dix jours à l'étuve à 37° ; en dernier lieu, elle fut à nouveau chauffée à 56° , une première fois pendant une heure, une deuxième fois pendant une demi-heure, et cela à 24 heures d'intervalle.

Vaccin bromé. — Nous n'entrerons pas dans le détail de sa préparation, absolument parallèle à celle du précédent avec la différence que la solution iodo-iodurée a été remplacée par une solution bromo-bromurée renfermant :

Brome	1 gr. 25
Bromure de potassium	2 gr. 8
Eau distillée	100 cc.

Après une demi-heure de contact, nous avons déplacé le brome par addition d'iodure de potassium à 10 % (v gouttes

pour 10 cm³) (1) ; l'iode libéré a été neutralisé, comme dans le cas du vaccin iodé, par l'hyposulfite de soude à 5 %.

II. — VACCINS A BASE DE BACILLES DE KOCH DÉGRAISSÉS.

Etant donné l'extrême toxicité des constituants adipo-cireux et lipoïdiques du bacille tuberculeux, nous avons jugé intéressant de préparer des émulsions de bacilles dégraissés par contact avec les différents solvants des corps gras : éther, chloroforme, acétone. Au point de vue de la valeur respective de ces solvants, nous pouvons conclure de l'ensemble des travaux relatifs à la constitution chimique du bacille tuberculeux que le chloroforme est le solvant le plus puissant des substances lipoïdo-graisseuses ; l'éther en dissout la majeure partie, tandis que l'acétone à froid n'extraît qu'une faible proportion de graisses.

1° *Bacilles dégraissés par l'éther sulfurique.*

Les bacilles de KOCH (culture de trois jours), émulsionnés en présence de perles de verre suivant la technique déjà décrite, sont mis au contact d'un assez fort volume d'éther sulfurique (100 cm³ environ). Au bout d'une demi-heure, ce premier liquide d'extraction est décanté à la pipette à boules et remplacé par une nouvelle quantité d'éther qu'on laisse en contact une demi-heure ; après décantation et évaporation de l'éther à l'étuve à 37°, les bacilles sont repris par l'eau physiologique stérile et traités par la solution iodo-iodurée de RANQUE et SENEZ (0 cm³ 2 pour 10 cm³ d'émulsion) pendant une demi-heure. L'excès d'iode est alors neutralisé par l'hyposulfite de soude et l'émulsion, additionnée de solution sulfitée de trioxyméthylène, est répartie en ampoules stériles et chauffée à 56° pendant une demi-heure.

(1) Ce déplacement du brome par l'iode avait pour but d'éviter les modifications du PH que pouvait entraîner l'addition d'hyposulfite au brome, dans le cas où il y aurait eu un excès d'halogène (formation d'acide sulfurique). TREADWELL et BALI, *Analyse qualitative*, page 328.

*2^o Bacilles dégraissés par l'action successive
de l'éther et du chloroforme.*

La préparation de ce vaccin est identique à celle du précédent, mais ici nous superposons à l'action dissolvante de l'éther sulfurique (contact d'une heure, en renouvelant le liquide une fois), celle du chloroforme, solvant des plus actifs, que nous faisons agir sur les bacilles pendant une demi-heure. L'émulsion est ensuite traitée par la solution iodo-iodurée, comme dans le cas des bacilles simplement dégraissés par l'éther.

*3^o Bacilles dégraissés par l'action successive
de l'acétone et de l'éther.*

Les solvants utilisés successivement sont ici l'acétone (une heure de contact, en renouvelant le liquide d'extraction au bout d'une demi-heure), puis l'éther (contact d'une demi-heure).

Nous opérons ensuite comme précédemment.

**B) Effets expérimentaux des bacilles tuberculeux
diversement traités chez l'animal neuf.**

Nous avons étudié expérimentalement, chez l'animal neuf (cobaye, lapin, âne), les effets des bacilles morts traités par les divers procédés que nous venons d'indiquer. Nous passerons successivement en revue l'action des bacilles non dégraissés et celle des bacilles dégraissés.

I. — ACTION DES BACILLES NON DÉGRAISSÉS.

1^o Bacilles formolés (action du trioxyméthylène sulfité).

Les résultats que nous consignons ici ne se rapportent qu'à un nombre réduit d'animaux. Nous avons en effet laissé vivre la majorité des sujets en expérience que nous avons, par la

suite, inoculés de tuberculose virulente afin de pouvoir mesurer les effets préventifs de la vaccination.

a) ACTION SUR LE COBAYE.

Cobaye N° 1.

L'animal subit, du 13 octobre au 4 novembre 1931, par voie sous-cutanée et alternativement à la cuisse droite et à la cuisse gauche, le traitement suivant :

Le 13 octobre 1931	: ½ cc.	du vaccin N° 1	(250 millions de bacilles)
20 — — —	: 1 cc.	— — —	(500 — — — —)
27 — — —	: 2 cc.	— — —	(1 milliard — — —)
4 novembre	1 cc.	— — —	(500 millions — — —)

Soit au total 4 cm³ 5 de vaccin, renfermant 2 milliards et demi de bacilles tués par l'action du trioxyméthylène en solution sulfitée.

L'animal est sacrifié le 17 décembre 1931.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 495 gr. ; poids final : 460 gr. ; perte de poids : 35 gr.

EVOLUTION DES GANGLIONS. — L'injection de fortes quantités de bacilles morts a déterminé dans la région inguinale une réaction ganglionnaire appréciable.

4 novembre : Apparition, du côté droit, d'un empâtement inguinal et d'un ganglion mesurant le volume d'un grain de chanvre ; à gauche, ganglion à peine perceptible, de la grosseur d'un grain de millet.

13 novembre : A droite et à gauche, le ganglion inguinal atteint la grosseur d'un gros grain de chanvre. Au point de l'injection, des deux côtés, nous constatons la présence d'une fistule qui laisse écouler un pus épais.

23 novembre : Pas de modification du ganglion à droite. Sur frottis colorés par la méthode de ZIEHL-NEESEN, le pus rejeté par la fistule révèle la présence de nombreux bacilles altérés. La fistule de gauche est cicatrisée.

1^{er} décembre : Le ganglion inguinal droit atteint les dimensions

d'un petit pois ; celui de gauche également. A droite est apparu un deuxième ganglion de la grosseur d'un grain de millet. La fistule de droite est cicatrisée.

7 décembre : A droite, les ganglions sont respectivement comparables à un petit pois et à un grain de chanvre ; à gauche, pas de modifications.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Ganglions inguinaux* : A droite, ils mesurent respectivement 7 mm. et 4 mm. de diamètre. A gauche, un seul ganglion de 6 mm. de diamètre.

Ganglions lombaires : L'hypertrophie des ganglions lombaires est très peu accusée et se traduit par l'existence, à droite et à gauche, d'un petit ganglion translucide de 5 mm. de diamètre.

Poumons, reins, foie : Aspect normal.

Rate : Faiblement hypertrophiée, mais sans granulations.

b) ACTION SUR LE LAPIN.

Lapin N° 4.

L'animal est injecté, par voie intraveineuse, avec des doses croissantes du vaccin formolé n° 2.

Le	4 janvier 1932	: 1 cc.	de vaccin (250 millions de bacilles)			
9	—	—	: 2 cc.	—	—	(100 — —)
16	—	—	: 3 cc.	—	—	(750 — —)
22	—	—	: 4 cc.	—	—	(1 milliard — —)
28	—	—	: 4 cc.	—	—	(1 milliard — —)

Soit au total 14 cm³ d'émulsion, renfermant 3 milliards et demi de bacilles tués par la solution sulfitée de trioxyméthylène et chauffés à 65° et 56°.

L'animal meurt le 30 janvier 1932.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 670 ; poids final : 2 kg. 695. Pas de modification appréciable du poids.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Hypertrophiés, ils présentent un aspect hépatisé. Il n'y a pas de lésions macroscopiques visibles.

Reins : Faiblement hypertrophiés.

Rate : D'aspect globuleux, elle atteint un volume considérable.

Etant donné l'aspect anormal présenté par les différents organes (poumons, rate), nous avons jugé prudent de contrôler, par l'inoculation au cobaye, que nous n'avions pas affaire à une infection tuberculeuse provoquée par des bacilles imparfaitement tués. A cet effet, deux cobayes ont été injectés, sous la peau de la cuisse, l'un avec une émulsion de rate broyée en présence de sérum physiologique, l'autre avec une émulsion de poumon préparée de la même façon. Ces animaux n'ont jamais présenté, dans la suite, ni réactions ganglionnaires, ni lésions viscérales d'origine tuberculeuse.

Lapin N° 3.

Parallèlement au lapin n° 4, il a reçu par voie intraveineuse 3 milliards et demi de bacilles tués, du 4 au 28 janvier 1932. Il meurt d'infection secondaire provoquée par une morsure le 3 mars 1932.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 310 ; poids final : 1 kg. 750. L'abaissement considérable du poids est très probablement en rapport avec l'infection accidentelle ayant déterminé la mort.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons, Reins, Rate* : Aspect normal.

Foie : Aspect normal. La vésicule biliaire est très volumineuse.

2° Bacilles traités par l'iode ou le brome, puis formolés.

a) ACTION SUR LE COBAYE.

Notre expérimentation a porté tout d'abord sur un lot de six cobayes répartis de la manière suivante : trois d'entre eux, les *cobayes* n° 1, n° 2, n° 3, ont été injectés par voie sous-cutanée avec les bacilles iodés et traités par la solution sulfitée de trioxyméthylène ; les trois autres (*cobayes* n° 4, n° 5, n° 6), avec les bacilles bromés et traités par la même solution formolée.

Dans chaque groupe, l'un des sujets en expérience était traité par des doses progressives de bacilles tués, alors que les deux

autres recevaient en une seule injection une quantité massive de ces bacilles.

Cas des bacilles iodés

Cobaye N° 1.

Il reçoit le 4 mai 1932 au matin, sous la peau de la cuisse gauche, une injection de 2 cm³ de vaccin iodé renfermant un milliard de bacilles. Nous prenons la température le soir à 17 heures et ne constatons pas d'élévation thermique (37°1).

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 610 gr. ; poids le 12 juillet : 460 gr. ; perte de poids : 150 gr. en deux mois.

EVOLUTION DES GANGLIONS. — 11 mai : empâtement inguinal du côté inoculé ; 18 mai : le ganglion est de la grosseur d'un grain de chanvre ; 2 juin : pas de modifications ; 17 juin : le ganglion inguinal atteint la grosseur d'un petit pois ; 25 juin : pas de modifications ; 1^{er} juillet : pas de modifications.

Cobaye N° 2.

Il est injecté le 4 mai 1932 au matin, sous la peau de la cuisse gauche, avec 3 cm³ de vaccin iodé renfermant 1 milliard et demi de bacilles morts. Le soir à 5 heures, la température ne dépasse pas 37°2.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 630 gr. ; poids le 12 juillet : 490 gr. ; perte de poids : 140 gr. en deux mois.

EVOLUTION DES GANGLIONS. — 11 mai : empâtement au niveau de l'aine gauche ; 18 mai : ganglion de la grosseur d'un grain de chanvre ; 2 juin : pas de modifications ; 17 juin : le ganglion atteint le volume d'un petit pois ; 25 juin : pas de modifications ; 1^{er} juillet : pas de modifications.

Cobaye N° 3.

L'animal subit, du 4 mai au 25 juin, le traitement suivant :

Le 4 mai 1932 :	½ cc. de vaccin (250 millions de bacilles)
11 — — :	1 cc. — — (500 — — —)
18 — — :	2 cc. — — (1 milliard — —)
25 — — :	1 cc. — — (500 millions — —)

Soit au total : 4 cm³ 5 de vaccin, renfermant 2 milliards et demi de bacilles.

Les injections sont pratiquées par voie sous-cutanée et alternativement à la cuisse gauche et à la cuisse droite.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 650 gr. ; poids le 12 juillet : 490 gr. ; perte de poids : 160 gr. en deux mois.

ÉVOLUTION DES GANGLIONS. — 18 mai : empâtement inguinal du côté droit ; 25 mai : pas de modifications ; 2 juin : le ganglion de droite a le volume d'un grain de chanvre tandis qu'à gauche apparaît un ganglion à peine perceptible ; 17 juin : à droite, le ganglion inguinal atteint la grosseur d'un petit pois et l'on constate la présence d'une fistule qui laisse écouler un pus visqueux ; à gauche, le volume du ganglion ne dépasse pas celui d'un grain de chanvre ; 25 juin : pas de modifications ; 1^{er} juillet : de chaque côté, le ganglion atteint le volume d'un petit pois ; la fistule est cicatrisée.

Cas des bacilles bromés

Cobaye N° 4.

Inoculé le 4 mai 1932 au matin, sous la peau de la cuisse gauche, avec 2 cm³ de vaccin bromé (soit 1 milliard de bacilles), l'animal ne présente aucune élévation de température (37°5 à 17 heures).

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 530 gr. ; poids le 12 juillet : 450 gr. ; perte de poids : 80 gr. en deux mois.

ÉVOLUTION DES GANGLIONS. — 11 mai : un empâtement se manifeste au niveau de l'aîne gauche.

L'animal meurt le 13 mai d'affection intercurrente.

Cobaye N° 5.

L'injection de 3 cm³ de vaccin bromé (1 milliard et demi de bacilles), effectuée le 4 mai, ne détermine pas d'élévation thermique (37°4 à 17 heures).

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 670 gr. ; poids le 12 juillet : 510 gr. ; perte de poids : 160 gr. en deux mois.

ÉVOLUTION DES GANGLIONS. — 11 mai : du côté inoculé, un ganglion de la grosseur d'un grain de chanvre ; 18 mai : pas de modifications ; 2 juin : pas de modifications ; 25 juin : le ganglion inguinal atteint le volume d'un petit pois ; une fistule suppurante apparaît au point de l'inoculation ; 1^{re} juillet : pas de modifications.

Cobaye N° 6.

Il reçoit, par voie sous-cutanée, alternativement à la cuisse droite et à la cuisse gauche, des doses progressives de bacilles bromés :

Le 4 mai 1932 :	1/2 cc.	de vaccin	(250 millions de bacilles)
11 — — :	1 cc.	— —	(500 — — —)
18 — — :	2 cc.	— —	(1 milliard — —)
25 — — :	1 cc.	— —	(500 millions — —)

Soit au total 4 cm³ 5 de vaccin bromé renfermant 2 milliards et demi de bacilles.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 750 gr. ; poids le 12 juillet : 570 gr. ; perte de poids : 180 gr. en deux mois.

ÉVOLUTION DES GANGLIONS. — 18 mai : du côté droit, léger empâtement inguinal ; 2 juin : empâtement inguinal à droite et à gauche ; 25 juin : pas de modifications, mais du côté droit une fistule laisse écouler un pus visqueux ; 1^{er} juillet : pas de modifications à gauche ; à droite, le ganglion inguinal est de la grosseur d'un grain de chanvre et la fistule est en voie de cicatrisation.

L'autopsie de ces divers cobayes n'a pas été effectuée ; leur décès, dû très probablement à une infection à allure épidémique, étant survenu pendant une période d'absence au cours du mois d'août 1932.

b) ACTION SUR LE LAPIN.

Cas des bacilles iodés.

Les lapins n° 1 et n° 2 ont été traités par voie sous-cutanée ; les lapins n° 3 et n° 4 par voie intraveineuse, les injections étant faites alternativement dans la veine de l'oreille droite et la veine de l'oreille gauche.

Le traitement a été effectué du 8 avril au 20 mai 1932 :

Le 8 avril :	1 cc. de vaccin iodé (250 millions de bacilles)	
14 — :	2 cc. — — (750 — — —)	
21 — :	3 cc. — — (1 milliard — —)	
28 — :	4 cc. — — (1 — — —)	
6 mai :	4 cc. — — (1 — — —)	
13 — :	4 cc. — — (1 — — —)	
20 — :	4 cc. — — (1 — — —)	

Soit 22 cm³ de vaccin renfermant 5 milliards et demi de bacilles.

Lapin N° 1 (traité par voie sous-cutanée).

L'animal a vécu jusqu'au 17 juin, date à laquelle il a été sacrifié.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 160 ; poids final : 2 kg. 300 ; augmentation de poids : 140 gr. en deux mois et neuf jours.

RECHERCHE DES ANTICORPS. — *La réaction d'agglutination*, effectuée le 10 juin, soit 20 jours après la dernière injection, a donné les résultats suivants :

Dilutions de sérum	1 h. après	24 h. après
1 / 50	+ + + — —	+ + + + +
1 / 100	+ + — — —	+ + + + +
1 / 150	+ — — — —	+ + + + +
1 / 200	—	+ + + + —
1 / 300	—	+ + + — —
1 / 350	—	+ + — — —
1 / 400	—	+ — — — —
1 / 500	—	—

Réaction de déviation du complément, effectuée le 18 juin, la dose minima active d'alexine au 1 / 15 étant 0 cm³ I.

RÉACTION		
Alexine au 1 / 15	Résultat en présence d'antigène méthylique	Résultat en présence d'antigène microbien
1) 0 cc. 1	H ^o	H ^o
2) 0 cc. 2	H ^o	Hp
3) 0 cc. 3	H ^o	Hp
4) 0 cc. 4	Hp	H ^t
5) 0 cc. 5	<u>H^t</u>	<u>H^t</u>

TÉMOINS		
Alexine au 1 / 15	Témoin sérum	Témoin antigène (émulsion bacillaire)
1) 0 cc. 1	Hp	H ^t
2) 0 cc. 2	H ^t	<u>H^t</u>
3) 0 cc. 3	<u>H^t</u>	H ^t

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Faiblement hypertrophiés, de couleur rouge carminé, ils présentent quelques placards hémorragiques.

Reins, Rate, Foie : Aspect normal.

Lapin N° 2 (traité par voie sous-cutanée).

L'animal a été sacrifié le 7 juillet, après trois mois de vie utile.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 120 ; poids final : 2 kg. 080 ; perte de poids : 40 gr. en deux mois.

Réaction d'agglutination. — Examen pratiqué le 6 juin, 16 jours après la dernière injection :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>1 h. après</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + —	+ + + + +
1/100	+ + + — —	+ + + + +
1/150	+ + — — —	+ + + + +
1/200	+ — — — —	+ + + + —
1/250	—	+ + — — —
1/300	—	+ — — — —
1/350	—	—

Examen pratiqué à nouveau le 8 juillet, 48 jours après la dernière injection.

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>1 h. après</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + — —	+ + + + +
1/100	+ + — — —	+ + + + +
1/150	+ — — — —	+ + + + —
1/200	—	+ + — — —
1/250	—	—
1/300	—	—
1/350	—	—

Réaction de déviation du complément effectuée le 8 juillet.

RÉACTION		
<i>Alexine au 1/15</i>	<i>Résultat en présence d'antigène méthylique</i>	<i>Résultat en présence d'antigène microbien</i>
1) 0 cc. 1	H ^t	H ^o
2) 0 cc. 2	$\overline{\text{H}}^{\text{t}}$	Hp
3) 0 cc. 3	H ^t	$\overline{\text{H}}^{\text{t}}$
4) 0 cc. 4	H ^t	$\overline{\text{H}}^{\text{t}}$
5) 0 cc. 5	H ^t	H ^t

TÉMOINS		
<i>Alexine au 1/15</i>	<i>Témoin sérum</i>	<i>Témoin antigène (émulsion bacillaire)</i>
1) 0 cc. 1	H ^t	H ^t
2) 0 cc. 2	$\overline{\text{H}}^{\text{t}}$	$\overline{\text{H}}^{\text{t}}$
3) 0 cc. 3	H ^t	H ^t

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Non hypertrophiés, d'aspect normal, mais faiblement hémorragiques par places.
Reins, Rate, Foie : Aspect normal.

Lapin N° 3 (traité par voie veineuse).

Sacrifié le 7 juillet.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 470 ; poids final : 2 kg. 080 ; perte de poids : 390 gr. en deux mois.

Réaction d'agglutination, pratiquée le 8 juillet.

Dilutions de sérum	1 h. après	24 h. après
1/50	++ + + —	+ + + + +
1/100	+ + + + —	+ + + + +
1/150	+ + — — —	+ + + + —
1/200	+ — — — —	+ + + — —
1/250	—	+ — — — —
1/300	—	—
1/350	—	—

Réaction de déviation du complément, pratiquée le 8 juillet.

Alexine au 1/15		Résultat en présence d'antigène méthylque	Résultat en présence d'antigène microbien
RÉACTION			
1)	0 cc. 1	H ^t	Hp
2)	0 cc. 2	H ^t	H ^t
3)	0 cc. 3	H ^t	H ^t
4)	0 cc. 4	H ^t	H ^t
5)	0 cc. 5	H ^t	H ^t
TÉMOINS			
Alexine au 1/15		Témoin sérum	Témoin antigène (émulsion bacillaire)
1)	0 cc. 1	H ^t	H ^t
2)	0 cc. 2	H ^t	H ^t
3)	0 cc. 3	H ^t	H ^t

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Faiblement hyper-

trophies, présentant quelques points hémorragiques et, sur les bords, des bulles d'emphysème.

Reins, Rate, : Aspect normal.

Lapin N° 4 (traité par voie veineuse).

Sacrifié le 10 juin.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 420 ; poids final : 2 kg. 150 ; perte de poids : 270 gr.

Réaction d'agglutination (le 11 juin).

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>1 h. après</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + —	+ + + + +
1/100	+ + + — —	+ + + + +
1/150	+ + + — —	+ + + + +
1/200	+ + — — —	+ + + + +
1/250	—	+ + + + —
1/300	—	+ + — — —
1/350	—	+ + — — —
1/400	—	—

Réaction de déviation du complément (le 11 juin).

<i>Alexine au 1/15</i>		<i>Résultat en présence d'antigène méthylique</i>	<i>Résultat en présence d'antigène microbien</i>
RÉACTION			
1)	0 cc. 1	H ^t	H ^o
2)	0 cc. 2	$\overline{\text{H}^t}$	H ^o
3)	0 cc. 3	H ^t	H ^o
4)	0 cc. 4	H ^t	$\overline{\text{H}^t}$
5)	0 cc. 5	H ^t	$\overline{\text{H}^t}$

<i>Alexine au 1/15</i>		<i>TÉMOINS Témoin sérum</i>	<i>Témoin antigène (émulsion bacillaire)</i>
1)	0 cc. 1	H ^t	H ^t
2)	0 cc. 2	$\overline{\text{H}^t}$	$\overline{\text{H}^t}$
3)	0 cc. 3	H ^t	H ^t

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Faiblement hypertrophiés, mais d'aspect normal.

Reins, Rate, Foie : Aspect normal.

Cas des bacilles bromés.

Une série de quatre lapins a été également traitée par les bacilles bromés, les *lapins* n° 1' et n° 2' par la voie sous-cutanée, les *lapins* n° 3' et n° 4' par la voie veineuse. Les injections ont été effectuées du 2 mai au 17 juin 1932 :

Le 2 mai 1932	: 1 cc. de vaccin bromé (250 millions de bacilles)
9 mai	: 2 cc. — — — (500 — — —)
18 mai	: 3 cc. — — — (750 — — —)
25 mai	: 4 cc. — — — (1 milliard — —)
3 juin	: 4 cc. — — — (1 — — — —)
10 juin	: 4 cc. — — — (1 — — — —)
17 juin	: 4 cc. — — — (1 — — — —)

Soit au total 22 cm³ de vaccin renfermant 5 milliards et demi de bacilles.

Lapin N° 1' (traité par voie sous-cutanée).

Sacrifié le 5 juillet, après deux mois de vie utile.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 460 ; poids final : 1 kg. 790 ; perte de poids : 670 gr. en deux mois.

Réaction d'agglutination non effectuée.

Réaction de déviation du complément, pratiquée le 6 juillet, 19 jours après la dernière injection.

RÉACTION			
Alexine au 1/15	Résultat en présence d'antigène méthylique	Résultat en présence d'antigène microbien	
1)	0 cc. 1	Hp	H ^o
2)	0 cc. 2	H ^t	H ^o
3)	0 cc. 3	<u>H^t</u>	Hp
4)	0 cc. 4	H ^t	H ^t
5)	0 cc. 5	H ^t	<u>H^t</u>

TÉMOINS

	Alexine au 1/15	Témoin sérum	Témoin antigène (émulsion bacillaire)
1)	0 cc. 1.	Hp	Hp
2)	0 cc. 2	H ^t	H ^t
3)	0 cc. 3	H ^t	H ^t

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Non hypertrophiés, avec larges plages d'aspect hémorragique.

Reins, Rate, Foie : Aspect normal.

Lapin N° 2' (traité par voie sous-cutanée).

L'animal a été sacrifié le 7 juillet (deux mois de vie utile).

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 350 ; poids final : 2 kg. 110 ; perte de poids : 240 gr. en deux mois.

Réaction d'agglutination effectuée le 8 juillet, soit 20 jours après la dernière injection.

<i>Dilutions de sérum</i>	1 h. après	24 h. après
1 / 25	+ + + + —	+ + + + +
1 / 50	+ + + + —	+ + + + +
1 / 100	+ + — — —	+ + + + +
1 / 150	+ — — — —	+ + + — —
1 / 250	—	+ — — — —
1 / 300	—	—

Réaction de déviation du complément, le 8 juillet.

RÉACTION

	Alexine au 1/15	Résultat en présence d'antigène méthylique	Résultat en présence d'antigène microbien
1)	0 cc. 1	Hp	H ^o
2)	0 cc. 2	H ^t	H ^o
3)	0 cc. 3	H ^t	Hp
4)	0 cc. 4	H ^t	H ^t
5)	0 cc. 5	H ^t	H ^t

		TÉMOINS	
Alexine au 1/15		Témoin sérum	Témoin antigène (émulsion bacillaire)
1)	0 cc. 1	$\overline{H^t}$	$\overline{H^t}$
2)	0 cc. 2	$\overline{H^t}$	$\overline{H^t}$
3)	0 cc. 3	$\overline{H^t}$	$\overline{H^t}$

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Non hypertrophiés, présentant sur les bords des bulles d'emphysème.
Reins, Rate, Foie : Aspect normal.

Lapin N° 3' (traité par voie veineuse).

Sacrifié le 25 juin.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 200 ; poids final : 2 kg. 320 ; augmentation de poids : 120 gr.

Réaction d'agglutination, pratiquée le 26 juin, 9 jours après la dernière injection.

Dilutions de sérum	1 h. après	24 h. après
1/50	+++++	+++++
1/100	+++++	+++++
1/150	+++---	+++---
1/200	+-----	+++---
1/300	---	++-----
1/350	---	---

Réaction de déviation du complément, le 27 juin.

		RÉACTION	
Alexine au 1/15		Résultat en présence d'antigène méthylique	Résultat en présence d'antigène microbien
1)	0 cc. 1	H^o	H^o
2)	0 cc. 2	H^o	H^o
3)	0 cc. 3	H^o	H^o
4)	0 cc. 4	H^o	H^o
5)	0 cc. 5	H^o	H_p
6)	0 cc. 6	H_p	$\overline{H^t}$
7)	0 cc. 7	$\overline{H^t}$	$\overline{H^t}$

		TÉMOINS	
Alexine au 1/15		Témoin sérum	Témoin antigène (émulsion bacillaire)
1)	0 cc. 1	Hp	Hp
2)	0 cc. 2	H ^t	H ^t
3)	0 cc. 3	H ^t	H ^t

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Aspect normal.
Reins, Rate, Foie : Aspect normal.

Lapin N° 4' (traité par voie veineuse).

Sacrifié le 7 juillet.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 550 ; poids final : 3 kg. 060 ; augmentation de poids : 510 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Fortement hypertrophiés.

Reins, Rate : Faiblement hypertrophiés.

c) EXPÉRIMENTATION CHEZ L'ÂNE (1)

Les essais de sérothérapie que nous exposerons ultérieurement nous ont amenée à étudier les réactions provoquées par l'injection des bacilles tuberculeux tués chez un âne entier, âgé de trois ans. L'animal pesait 107 kilos au moment où ont été commencées les injections.

Le 19 juillet 1932, à titre d'indication humorale, il est soumis à l'épreuve de la tuberculine par les deux procédés suivants :

1° *L'ophthalmo-réaction ou conjonctivo-réaction* qui consiste à déposer, sur la conjonctive, III à IV gouttes de tuberculine pure

(1) Nous tenons à remercier ici M. le docteur DEDIEU, vétérinaire-directeur de l'abattoir de Montpellier, dont la collaboration nous a été précieuse pour cette partie de notre travail.

(tuberculine pour usage vétérinaire de l'Institut PASTEUR). La réaction a été pratiquée à l'œil gauche.

2° *L'intrapalpébro-réaction*, pratiquée par injection de 1/8 de cm³ de tuberculine diluée au 1/4, dans le derme de la paupière inférieure droite.

Les deux réactions furent totalement négatives.

Les injections de bacilles tués (traités par l'iode et le trioxy-méthylène en solution sulfitée) ont été effectuées au début par la voie veineuse, puis par la voie sous-cutanée, aux doses suivantes :

23 juill. 1932	: 1 cc.	vaccin (500 millions bacilles)	dans veine jugulaire dr.
31 juillet	: 2 cc.	— (1 milliard)	— — — gauche
8 août	: 4 cc.	— (2 milliards)	— — — droite
16 août	: 4 cc.	— (2 milliards)	— — — gauche
24 août	: 2 cc.	— (1 milliard)	sous la peau (encolure à droite)
1 ^{er} sept.	: 4 cc.	— (2 milliards)	— — — à gauche
9 sept.	: 8 cc.	— (4 milliards)	— — — à droite
17 sept.	: 10 cc.	— (5 milliards)	— — — (poitrail)

Soit en tout 35 cm³ d'émulsion vaccinale, renfermant 17 milliards et demi de bacilles.

Lors des dernières injections, la résorption des bacilles injectés à fortes doses s'est effectuée lentement ; il s'est ainsi formé, au niveau de la région injectée, des nodules sous-cutanés de la grosseur d'une noix, qui n'ont disparu que très lentement.

Un mois après la dernière injection, le 22 octobre, nous avons opéré un premier prélèvement de sang (300 cm³ environ), par ponction de la veine jugulaire ; le sang, recueilli dans un flacon de LATAPIE stérile, a été abandonné à la glacière à + 4° jusqu'au surlendemain. Le sérum a été alors réparti aseptiquement en ampoules stériles et porté à l'étuve à 56° pendant une heure ; la tyndallisation a été assurée par un deuxième, puis un troisième chauffage d'une heure à l'étuve à 56°, le lendemain et le surlendemain.

La recherche des anticorps (agglutinines et sensibilisatrices) a été effectuée parallèlement sur le sérum frais et sur le sérum tyndallisé.

Réaction d'agglutination effectuée le 23 octobre sur le sérum frais.

Dilutions de sérum	1 h. après	24 h. après
1/50	+ — — — —	+ + + + +
1/100	+ — — — —	+ + + + +
1/250	—	+ + + + —
1/300	—	+ + + + —
1/400	—	+ + + — —
1/500	—	+ + — — —
1/600	—	+ — — — —
1/700	—	—

Réaction de déviation du complément effectuée le 24 octobre sur le sérum frais.

		RÉACTION	
Alexine au 1/15		Résultat en présence d'antigène méthylique	Résultat en présence d'antigène microbien
1)	0 cc. 1	H ^o	H ^o
2)	0 cc. 2	H ^o	H ^o
3)	0 cc. 3	H ^o	H ^o
4)	0 cc. 4	Hp	H ^o
5)	0 cc. 5	Hp	H ^o
6)	0 cc. 6	Hp	Hp
7)	0 cc. 7	H ^t	Hp
8)	0 cc. 8	<u>H^t</u>	Hp
9)	0 cc. 9	H ^t	<u>H^t</u>

		TÉMOINS	
Alexine au 1/15		Témoin sérum	Témoin antigène (émulsion bacillaire)
1)	0 cc. 1	H ^o	Hp
2)	0 cc. 2	Hp	H ^t
3)	0 cc. 3	<u>H^t</u>	<u>H^t</u>

L'alexine est donc fortement déviée en présence de l'émulsion microbienne, moins fortement en présence de l'antigène méthylique.

Réaction d'agglutination effectuée le 27 octobre sur le sérum tyndallisé.

Dilutions de sérum	1 h. après	24 h. après
1/100	—	+ + + + +
1/200	—	+ + + + +
1/400	—	+ + — — —
1/500	—	+ — — — —
1/600	—	—
1/700	—	—

Réaction de déviation du complément pratiquée le 28 octobre sur le sérum tyndallisé.

RÉACTION			
Alexine au 1/15		Résultat en présence d'antigène méthylique	Résultat en présence d'antigène microbien
1)	0 cc. 1	H ^o	H ^o
2)	0 cc. 2	H ^o	H ^o
3)	0 cc. 3	H ^o	H ^o
4)	0 cc. 4	H ^o	H ^o
5)	0 cc. 5	Hp	H ^o
6)	0 cc. 6	Hp	H ^o
7)	0 cc. 7	H ^t	Hp
8)	0 cc. 8	<u>H^t</u>	Hp
9)	0 cc. 9	H ^t	<u>H^t</u>

TÉMOINS			
Alexine au 1/15		Témoin sérum	Témoin antigène (émulsion bacillaire)
1)	0 cc. 1	H ^o	Hp
2)	0 cc. 2	Hp	H ^t
3)	0 cc. 3	<u>H^t</u>	<u>H^t</u>

Remarquons que le chauffage à 56° a modifié faiblement le pouvoir agglutinant du sérum. Le taux des sensibilisatrices n'a pas varié.

Un deuxième prélèvement de sang de 800 cm³ environ a été effectué le 5 novembre dans le but de nous procurer une certaine quantité de sérum immun. Ce sérum a été réparti en

ampoules, puis tyndallisé selon les données précédemment indiquées et conservé au laboratoire.

Le 13 décembre, nous prélevons encore une très faible quantité de sang en vue d'une nouvelle recherche du taux des agglutinines et des sensibilisatrices. Voici les résultats obtenus :

Réaction d'agglutination effectuée le 14 décembre sur le sérum frais.

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>1 h. après</i>	<i>24 h. après</i>
1 / 50	+ — — — —	+ + + + +
1 / 100	—	+ + + + +
1 / 250	—	+ + + + —
1 / 300	—	+ + + — —
1 / 400	—	+ + — — —
1 / 500	—	+ — — — —
1 / 600	—	+ — — — —
1 / 700	—	—

Réaction de déviation du complément pratiquée le 14 décembre sur le sérum frais.

		RÉACTION	
Alexine au 1/15		Résultat en présence d'antigène méthylique	Résultat en présence d'antigène microbien
1)	0 cc. 1	H ^o	H ^o
2)	0 cc. 2	H ^o	H ^o
3)	0 cc. 3	H ^o	H ^o
4)	0 cc. 4	Hp	H ^o
5)	0 cc. 5	Hp	Hp
6)	0 cc. 6	Hp	Hp
7)	0 cc. 7	Hp	Hp
8)	0 cc. 8	<u>H^t</u>	Hp
9)	0 cc. 9	<u>H^t</u>	<u>H^t</u>

		TÉMOINS	
Alexine au 1/15		Témoin sérum	Témoin antigène (émulsion bacillaire)
1)	0 cc. 1	Hp	Hp
2)	0 cc. 2	Hp	H ^t
3)	0 cc. 3	<u>H^t</u>	<u>H^t</u>

Nous concluons qu'à ce moment le taux des anticorps n'a

pas sensiblement varié dans le sang circulant par rapport aux premières réactions effectuées 52 jours auparavant.

D'autre part, le 11 décembre, deux jours avant le prélèvement de sang, nous avons pratiqué chez l'animal l'ophtalmo-réaction et l'intrapalpébro-réaction qui s'étaient montrées négatives. Ces résultats étaient en opposition, du moins en apparence, avec ceux de ZINSSER et PETROFF qui en 1924 avaient mentionné que l'on pouvait créer l'hypersensibilité tuberculinique chez l'animal sans l'injection préalable de bacilles vivants, par la simple inoculation de bacilles morts, à condition toutefois d'employer des quantités suffisantes de ces bacilles.

Nous devons faire remarquer, toutefois, qu'ici la réaction n'a été effectuée que tardivement, trois mois environ après la dernière injection de bacilles.

Poursuivant notre expérimentation, nous pratiquons, chez l'âne en traitement, une deuxième série d'injections par voie sous-cutanée aux doses suivantes :

Le 16 décembre 1932 :	2 cc. de vaccin	(1 milliard de bacilles)
24 décembre	: 5 cc. — —	(2 milliards et demi de bacilles)
2 janvier 1933	: 10 cc. — —	(5 — de bacilles)
10 janvier	: 10 cc. — —	(5 — — —)
18 janvier	: 8 cc. — —	(4 — — —)
26 janvier	: 10 cc. — —	(5 — — —)

En tout, 45 cm³ de vaccin iodé correspondant à 22 milliards et demi de bacilles, ce qui porte à 39 milliards le nombre total de bacilles injectés.

Le 18 février, nous prélevons par ponction de la veine jugulaire 500 cm³ de sang environ. Le sérum est tyndallisé au bain-marie (quatre chauffages d'une heure à 56°, à 24 heures d'intervalle).

Réaction d'agglutination effectuée sur le sérum frais.

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>4 h. après</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ — — — —	+ + + + +
1/100	+ — — — —	+ + + + +
1/400	+ — — — —	+ + + + —
1/500	+ — — — —	+ + + + —
1/700	—	+ + + — —
1/800	—	+ — — — —
1/1000	—	—

Réaction de déviation du complément effectuée le 20 février.

RÉACTION

Alexine au 1/15		Résultat en présence d'antigène méthylique	Résultat en présence d'antigène microbien
1)	0 cc. 1	H ^o	H ^o
2)	0 cc. 2	H ^o	H ^o
3)	0 cc. 3	H ^o	H ^o
4)	0 cc. 4	Hp	H ^o
5)	0 cc. 5	Hp	H ^o
6)	0 cc. 6	Hp	H ^o
7)	0 cc. 7	H ^t	Hp
8)	0 cc. 8	<u>H^t</u>	Hp
9)	0 cc. 9	H ^t	H ^t
10)	1 cc.	H ^t	<u>H^t</u>

TÉMOINS

Alexine au 1/15		Témoin sérum	Témoin antigène (émulsion bacillaire)
1)	0 cc. 1	H ^o	H ^t
2)	0 cc. 2	Hp	<u>H^t</u>
3)	0 cc. 3	<u>H^t</u>	H ^t

Le 7 mars, l'animal est pesé ; il présente une augmentation de poids de 6 kilos par rapport à la pesée de juillet 1932. Son état général paraît satisfaisant, mais nous observons, notamment à l'encolure et à l'épaule, des dépilations dues bien certainement à un effet toxique général (1).

Le 8 mars, soit un mois et 10 jours après la dernière injection de bacilles et 7 mois et 12 jours après le début des injections (23 juillet 1932), une faible quantité de sang est prélevée à l'animal en vue de la détermination du taux des anticorps.

(1) Un prélèvement effectué au niveau de ces dépilations nous avait montré qu'il ne s'agissait pas de gale.

Réaction d'agglutination, pratiquée sur le sérum frais.

Dilutions de sérum	24 h. après
1/50	+ + + + +
1/100	+ + + + +
1/250	+ + + + +
1/300	+ + + + —
1/400	+ + + + —
1/500	+ + + — —
1/600	+ + — — —
1/700	—

Réaction de déviation du complément effectuée le 10 mars.

RÉACTION

Alexine au 1/15		Résultat en présence d'antigène méthylique	Résultat en présence d'antigène microbien
1)	0 cc. 1	H ^o	H ^o
2)	0 cc. 2	H ^o	H ^o
3)	0 cc. 3	H ^o	H ^o
4)	0 cc. 4	H ^o	H ^o
5)	0 cc. 5	H ^o	H ^o
6)	0 cc. 6	Hp	Hp
7)	0 cc. 7	H ^t	H ^t
8)	0 cc. 8	<u>H^t</u>	<u>H^t</u>

TÉMOINS

Alexine au 1/15		Témoin sérum	Témoin antigène (émulsion bacillaire)
1)	0 cc. 1	H ^o	Hp
2)	0 cc. 2	H ^o	<u>H^t</u>
3)	0 cc. 3	<u>H^t</u>	<u>H^t</u>

Le taux des agglutinines et des sensibilisatrices se montrent ici faiblement abaissés par rapport aux résultats précédents.

A cette époque, nous cherchons à mettre en évidence l'apparition possible de l'état allergique par la réaction thermique consécutive à l'injection sous-cutanée de tuberculine. A cet effet,

la température est prise très régulièrement plusieurs fois par jour, avant et après l'épreuve tuberculinique (1).

Nous notons ainsi :

Le 8 mars 1933 :	37°	à 9 h.	—	38°4	à 17 h.
9 mars — :	37°3	à 9 h.	—	37°8	à 17 h.
10 mars — :	37°7	à 9 h.	—	38°8	à 17 h.
11 mars — :	37°2	à 9 h.	—	38°2	à 17 h.
12 mars — :	37°7	à 9 h.	—	38°3	à 17 h.
13 mars — :	37°8	à 9 h.	—	38°7	à 17 h.

Le 13 mars à 21 heures, l'animal, dont la température est de 38°3, est injecté par voie sous-cutanée (encolure à gauche) avec 1 cm³ de tuberculine diluée au 1/10. Le lendemain et le surlendemain, la température est prise toutes les deux heures et ne présente pas de modifications.

Le 14 mars :

38°7 à 6 h. — 38°1 à 8 h. — 38°3 à 10 h. — 37°8 à midi.
37°6 à 14 h. — 38°3 à 16 h. — 38°8 à 18 h. — 38°7 à 20 h.

Le 15 mars :

37°5 à 9 h. — 37°5 à midi — 37°7 à 17 h.

Le 16 mars à 9 heures, la température étant de 37°8, nous effectuons une nouvelle injection de 5 cm³ de tuberculine diluée au 1/10 (encolure à droite) ; nous notons alors successivement :

Le 16 mars : 37°9 à midi — 37°8 à 17 h.

17 mars : 37°8 à 9 h. — 38°5 à midi — 38° à 17 h.

18 mars : 37°7 à 9 h. — 38°1 à 17 h.

19 mars : 37°1 à 9 h. — 38°2 à 17 h.

D'après ces données, nous croyons pouvoir conclure que le traitement par les bacilles morts, tout au moins dans les conditions expérimentales que nous avons réalisées, n'a point fait naître, chez l'âne inoculé, l'hypersensibilité à la tuberculine.

Ceci étant établi, nous avons pratiqué, par la suite, de nouvelles injections sous-cutanées de tuberculine.

Notre but était de déterminer les relations susceptibles d'exis-

(1) La température normale des équidés varie de 37°5 à 38°.

ter entre la présence de la tuberculine dans l'organisme et l'abaissement du taux des anticorps. L'étude du séro-diagnostic en tuberculose révèle en effet qu'à la fin de l'évolution, c'est-à-dire au moment où les poisons du bacille exercent leur action sur l'organisme, le taux des anticorps s'abaisse progressivement dans le sang circulant ; on sait que chez certains malades la réaction d'agglutination peut même devenir négative à un moment donné.

Tout en poursuivant chez l'âne les injections de tuberculine, nous avons continué à contrôler d'une manière régulière la température.

Le 20 mars à 9 heures, la température étant de $37^{\circ}7$, nous effectuons une injection de 10 cm^3 de tuberculine diluée au $1/10$, par la voie sous-cutanée (poitrail).

Ce jour-là, nous notons successivement comme températures :

$37^{\circ}2$ à 11 h. — $37^{\circ}5$ à 13 h. — $37^{\circ}6$ à 15 h. — $37^{\circ}7$ à 17 h.

Le 21 mars : $37^{\circ}7$ à 9 h. — $37^{\circ}8$ à 17 h.

22 mars : $37^{\circ}1$ à 9 h. — $37^{\circ}7$ à 17 h.

Le 23 mars à 9 heures, la température est de 37° . Nous procédons à une deuxième injection de 10 cm^3 de tuberculine diluée au $1/10$, par voie sous-cutanée (épaule droite).

Nous notons alors, le même jour : $38^{\circ}7$ à 17 heures.

Le 24 mars : $38^{\circ}4$ à 9 h. — $38^{\circ}5$ à 17 h.

25 mars : $37^{\circ}1$ à 9 h. — $38^{\circ}1$ à 17 h.

26 mars : $37^{\circ}2$ à 9 h. — $37^{\circ}8$ à 17 h.

Le 27 mars à 9 heures, nous pratiquons une troisième injection sous-cutanée de 10 cm^3 de tuberculine diluée au $1/10$ (encolure à gauche). Les températures relevées sont les suivantes :

Le 27 mars : $38^{\circ}4$ à 17 h.

28 mars : 38° à 9 h. — $38^{\circ}4$ à 17 h.

29 mars : $37^{\circ}6$ à 9 h. — 38° à 17 h.

30 mars : $37^{\circ}3$ à 9 h. — $38^{\circ}2$ à 17 h.

Le 3 avril, une prise de sang est effectuée en vue de la détermination du taux des anticorps.

Réaction d'agglutination (sérum frais), le 5 avril :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+++++
1/100	+++++
1/250	+ + + + —
1/300	+ + + + —
1/400	+ + + — —
1/500	+ + + — —
1/600	+ + — — —
1/700	—

Le taux des agglutinines n'a pas sensiblement varié à la suite de l'introduction massive de tuberculine dans l'organisme.

Réaction de déviation du complément, effectuée le 5 avril.

RÉACTION			
	Alexine au 1/15	Résultat en présence d'antigène méthylique	Résultat en présence d'antigène microbien
1)	0 cc. 1	H ^t	Hp
2)	0 cc. 2	$\overline{\text{H}}^t$	$\overline{\text{H}}^t$
3)	0 cc. 3	H ^t	$\overline{\text{H}}^t$
4)	0 cc. 4	H ^t	H ^t
5)	0 cc. 5	H ^t	H ^t

TÉMOINS			
	Alexine au 1/15	Témoin sérum	Témoin antigène (émulsion bacillaire)
1)	0 cc. 1	Hp	Hp
2)	0 cc. 2	$\overline{\text{H}}^t$	$\overline{\text{H}}^t$
3)	0 cc. 3	$\overline{\text{H}}^t$	$\overline{\text{H}}^t$

La réaction de déviation est négative en présence des deux antigènes. Contrairement aux résultats obtenus pour les agglutinines, les sensibilisatrices spécifiques ont disparu.

Le 30 juin 1933, nous avons sacrifié l'âne en expérience ; nous avons recueilli aseptiquement le sang de l'animal, en vue de l'étude de l'action thérapeutique du sérum chez le cobaye tuberculisé. A ce moment, les réactions sérologiques effectuées sur le sérum frais nous fournissent les résultats suivants :

Réaction d'agglutination :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1 / 50	+ + + + +
1 / 100	+ + + + +
1 / 250	+ + + + —
1 / 300	+ + + + —
1 / 400	+ + — — —
1 / 500	—

Réaction de déviation du complément :

RÉACTION			
Alexine au 1/15		Résultat en présence d'antigène méthylique	Résultat en présence d'antigène microbien
1)	0 cc. 1	H ^t	Hp
2)	0 cc. 2	$\overline{H^t}$	H ^t
3)	0 cc. 3	H ^t	$\overline{H^t}$
4)	0 cc. 4	H ^t	H ^t
TÉMOINS			
Alexine au 1/15		Témoin sérum	Témoin antigène (émulsion bacillaire)
1)	0 cc. 1	Hp	Hp
2)	0 cc. 2	H ^t	$\overline{H^t}$
3)	0 cc. 3	$\overline{H^t}$	H ^t

Réaction négative.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — L'autopsie, pratiquée par M. le docteur DEDIEU, a montré que les divers organes du sujet présentaient un aspect parfaitement normal.

ESSAI DU POUVOIR BACTÉRICIDE DU SÉRUM EN CULTURE.

A cet effet, dans une série de fioles d'ERLENMEYER renfermant 30 cm³ de milieu de COURMONT, nous ajoutons respectivement 1 cm³ et 2 cm³ de sérum d'âne non tyndallisé, provenant de la saignée du 30 juin et conservé aseptiquement à la glacière.

Le 4 juillet, nous ensemençons ces divers milieux de culture

avec 5 gouttes d'une émulsion très concentrée de bacilles tuberculeux (souche ARLOING sur milieu de SABOURAUD) ; une fiole renfermant 30 cm³ de milieu de COURMONT estensemencée comme témoin et portée en même temps à l'étuve à 37°. Parallèlement et comme témoins de la stérilité du sérum, deux fioles nonensemencées, renfermant 30 cm³ de milieu de COURMONT additionné de sérum, sont mises à l'étuve à 37°.

RÉSULTATS

Ensemencement le 4 juillet :	Développement des bacilles tuberculeux		
	3 jours après	8 jours après	15 j. après
<i>Fiolesensemencées B. K. 5 gouttes :</i>			
Milieu de culture (témoin)	++---	++++-	+++++
Milieu de culture + 1 cc. sérum frais	+++--	+++++	+++++
— — — + 2 cc. sérum frais	++++-	+++++	+++++
<i>Témoins nonensemencés :</i>			
Milieu de culture + 1 cc. sérum frais	—	—	—
— — — + 2 cc. sérum frais	—	—	—

II. — ACTION DES BACILLES DÉGRAISSÉS.

Le 8 mai 1933, deux lapins neufs sont traités parallèlement, l'un avec des bacilles éthérés-iodés, l'autre avec des bacilles éthérés-chloroformés-iodés, soumis en dernier lieu à l'action de la solution sulfitée de trioxyméthylène.

Les doses de microbes injectés par la voie sous-cutanée sont les suivantes :

- Le 8 mai 1933 : 2 milliards 500 millions de bacilles.
 12 mai — : 5 milliards de bacilles.
 16 mai — : 8 milliards de bacilles.

Ces 15 milliards et demi de bacilles dégraissés ont été fort bien tolérés par les animaux en expérience.

Lapin A

Traité par les bacilles éthérés-iodés, il est sacrifié le 26 juin 1933.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 170 ; poids final : 2 kg. 070 ; perte de poids : 100 gr. en un mois et 18 jours.

RECHERCHE DES ANTICORPS. — *Réaction d'agglutination*, pratiquée le 9 juin, soit 24 jours après la dernière injection.

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>1 h. après</i>	<i>24 h. après</i>
1/100	+ — — — —	+ + + + +
1/200	+ — — — —	+ + + + +
1/400	+ — — — —	+ + + + +
1/500	—	+ + + + —
1/600	—	+ + — — —
1/700	—	+ — — — —
1/800	—	—

Le 27 juin, soit un mois et 11 jours après la dernière injection :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/100	+ + + + +
1/200	+ + + + +
1/400	+ + + + —
1/500	+ + + + —
1/600	+ + — — —
1/700	+ — — — —
1/800	—

Réaction de déviation du complément, pratiquée le 9 juin.

RÉACTION

	Alexine au 1/15	Résultat en présence d'antigène méthylique	Résultat en présence d'antigène microbien
1)	0 cc. 1	H ^o	H ^o
2)	0 cc. 2	H _p	H ^o
3)	0 cc. 3	H ^t	H _p
4)	0 cc. 4	H ^t	H ^t
5)	0 cc. 5	H ^t	H ^t

TÉMOINS

Alexine au 1/15		Témoin sérum	Témoin antigène (émulsion bacillaire)
1)	0 cc. 1	Hp	H ^o
2)	0 cc. 2	H ^t	H ^t
3)	0 cc. 3	H ^t	H ^t

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — Les divers organes présentent un aspect parfaitement normal.

Lapin B

Traité par les bacilles étherés-chloroformés-iodés, sacrifié le 26 juin également.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 360 ; poids final : 2 kg. 240 ; perte de poids : 120 gr.

RECHERCHE DES ANTICORPS. — Réaction d'agglutination, effectuée le 9 juin :

Dilutions de sérum	1 h. après	24 h. après
1/100	+ + — — —	+ + + + +
1/200	+ — — — —	+ + + + +
1/300	+ — — — —	+ + + + +
1/400	+ — — — —	+ + + + +
1/600	—	+ + + + —
1/700	—	+ + + — —
1/800	—	+ + — — —

Le 27 juin :

Dilutions de sérum	1 h. après	24 h. après
1/100	+ — — — —	+ + + + +
1/200	+ — — — —	+ + + + +
1/300	+ — — — —	+ + + + +
1/400	+ — — — —	+ + + + +
1/600	—	+ + + — —
1/700	—	+ + + — —
1/800	—	+ — — — —

Réaction de déviation du complément, le 9 juin.

RÉACTION			
Alexine au 1/15		Résultat en présence d'antigène méthylique	Résultat en présence d'antigène microbien
1)	0 cc. 1	H ^o	H ^o
2)	0 cc. 2	H ^t	H ^o
3)	0 cc. 3	$\overline{H^t}$	H ^o
4)	0 cc. 4	H ^t	Hp
5)	0 cc. 5	H ^t	$\overline{H^t}$
6)	0 cc. 6	H ^t	$\overline{H^t}$

TÉMOINS			
Alexine au 1/15		Témoin sérum	Témoin antigène) (émulsion bacillaire)
1)	0 cc. 1	Hp	H ^o
2)	0 cc. 2	H ^t	$\overline{H^t}$
3)	0 cc. 3	$\overline{H^t}$	$\overline{H^t}$

Nous notons ici que la réaction est totalement négative en présence de l'antigène méthylique. Dans le cas précédent, il y avait une réaction faiblement positive.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — Les organes ne présentent aucune lésion apparente.

ESSAIS DU POUVOIR BACTÉRICIDE.

Nous avons opéré parallèlement l'essai du pouvoir bactéricide du sang total et du sérum frais en culture. D'autre part, nous avons recherché s'il existait dans certains organes, dans la rate en particulier, des substances bactéricides susceptibles d'empêcher le développement du bacille tuberculeux en culture.

A cet effet, les rates fraîches des lapins A et B (pesant au total 2 gr. 70) ont été découpées en menus morceaux à l'aide de ciseaux stériles, puis introduites dans un tube de verre épais où, après addition d'eau distillée (11 cm³), nous les avons broyées

au moyen d'un gros agitateur en verre stérile. Après avoir laissé séjourner une heure à la glacière, nous ajoutons un égal volume d'eau physiologique à 15 ‰ de NaCl, afin de ramener à l'isotonie. Une partie du produit de broyage est alors centrifugée grossièrement et le liquide décanté est soumis à la filtration par le vide sur bougie CHAMBERLAND L3.

L'essai du produit bactéricide a porté d'une part sur le produit de broyage total, d'autre part sur le filtrat.

Dans une série de fioles d'ERLENMEYER renfermant 30 cm³ de milieu de COURMONT, nous ajoutons respectivement :

- a) 1 goutte de sang total (lapin A) prélevé aseptiquement à la seringue dans le cœur.
- b) 1 goutte de sang total (lapin B) prélevé de la même façon.
- c) 2 cc. de sérum frais (lapin A).
- d) 2 cc. de sérum frais (lapin B).
- e) 3 cc. du produit total de broyage des rates (lapins A et B).
- f) 2 cc. du filtrat de rate (lapins A et B).

Parallèlement à deux fioles témoins renfermant 30 cm³ de milieu de COURMONT, ces diverses fioles sontensemencées le 27 juin 1933 avec 5 gouttes d'émulsion concentrée de bacilles tuberculeux (souche de 48 heures sur milieu de SABOURAUD glycérimé). Elles sont portées à l'étuve à 37° en même temps que les fioles témoins du sérum et du produit de broyage des rates.

Nous consignons dans le tableau suivant les résultats obtenus.

Ensemencement le 27 juin 1933		Développement des bacilles tuberculeux		
		3 jours après	5 jours après	10 j. après
Ensemencés B. K. V gouttes.	Témoin de la culture (échantillon 1)	+	+	+
	Témoin de la culture (échantillon 2)	+	+	+
	Milieu de culture + L gouttes sang total (lapin A)			
	— — — + L gouttes — — (lapin B)			
	— — — + 2 cc. sérum frais (lapin A)			
	— — — + 2 cc. sérum frais (lapin B)			
	— — — + 3 cc. produit total de broyage de rate (lap. A et B)			
	— — — + 2 cc. filtrat de rate (lapins A et B)			
Témoins				
non ensemencés	Milieu de culture + 2 cc. sérum frais (lapin A)			
	— — — + 2 cc. — — (lapin B)			

CONCLUSIONS

Des expériences qui précèdent nous pouvons dégager les conclusions suivantes :

I. — *Au point de vue des réactions locales :*

1^o L'injection des bacilles tuberculeux simplement formolés (solution sulfitée de trioxyméthylène) ou traités en outre par divers halogènes (iode ou brome) détermine localement, chez le cobaye, une hypertrophie ganglionnaire faible, suivie de régression.

2^o Il se forme parfois, au point de l'injection, des abcès caséux qui laissent écouler un pus visqueux riche en bacilles altérés.

Nous ne pensons pas qu'on puisse interpréter ces réactions locales comme étant en rapport avec le phénomène de KOCH. On entend par là l'intolérance de l'organisme primitivement infecté par les bacilles tuberculeux vivants vis-à-vis de nouvelles doses infectantes. Cette intolérance se traduit par l'apparition d'une ulcération au point de l'inoculation et par un rejet de bacilles.

Dans le cas des bacilles morts injectés à fortes doses chez le cobaye (1 milliard à 2 milliards et demi), la toxicité des corps bacillaires permet, à notre avis, d'expliquer les réactions locales qui sont probablement liées, ainsi que nous l'avons précédemment indiqué, aux poisons lipoïdiques du bacille tuberculeux.

A ce propos, nous ferons remarquer que des quantités relativement énormes de bacilles dégraissés ont été injectées au lapin, par voie sous-cutanée, sans donner lieu à la moindre ulcération locale ; ce qui indique une forte diminution de la toxicité des corps microbiens soumis à l'action dissolvante de l'éther et du chloroforme.

II. — *Au point de vue des réactions générales :*

1^o Les injections de bacilles tués ont été, dans la majorité des cas, bien supportées par les animaux en expérience ; elles ont déterminé, toutefois, chez le cobaye et plus rarement chez le lapin, un abaissement sensible du poids.

D'autre part, malgré l'absence de lésions macroscopiques visibles, l'autopsie des animaux traités nous a révélé, en particulier chez le lapin, que les bacilles morts pouvaient provoquer, à doses élevées, une hypertrophie pulmonaire plus ou moins accusée, accompagnée de suffusions sanguines.

Les bacilles préalablement dégraissés par l'éther et le chloroforme se sont montrés moins toxiques, chez le lapin, que les bacilles simplement formolés ou traités par l'iode ou le brome, puis formolés (absence d'hypertrophie pulmonaire et de plages hémorragiques).

2^o Contrairement à ce qui avait été observé par divers auteurs (ZINSSER et PETROFF, MARAGLIANO), nous n'avons pu déceler, chez un animal soumis aux injections de bacilles tués (âne), l'apparition de l'hypersensibilité tuberculinique. Celle-ci, d'après les auteurs, est conditionnée par la dissociation de protéines bacillaires complexes et par la libération de fractions protéiques sensibilisantes dans l'organisme.

Nous nous croyons autorisée à conclure que les bacilles à l'état jeune, tels que nous les avons utilisés dans la préparation des vaccins, n'avaient pas encore élaboré les substances toxiques susceptibles de sensibiliser l'organisme vis-à-vis de la tuberculine.

3^o L'étude des réactions humorales nous a permis de constater, chez les animaux inoculés avec les bacilles morts, l'apparition d'anticorps spécifiques (agglutinines, sensibilisatrices). Ces anticorps ne sont décelables, dans le sérum sanguin, qu'après un certain laps de temps nécessaire à la résorption des bacilles ; ils atteignent bientôt un taux maximum qui s'abaisse ensuite assez rapidement.

La mise en évidence des sensibilisatrices, effectuée en utilisant parallèlement comme antigènes l'antigène méthylique de L. NÈGRE et A. BOQUET et une émulsion de bacilles de KOCH

(formes jeunes), nous a donné des résultats fort intéressants.

La réaction de déviation du complément telle qu'on la pratique habituellement sur les sérums tuberculeux, est basée sur l'emploi de l'antigène méthylique (extrait de phosphatides dans l'alcool méthylique). D'après L. NÈGRE et A. BOQUET, elle permettrait de déceler *in vitro* surtout les anticorps d'origine lipodique (phosphatides) (1).

Les auteurs ont constaté, d'autre part, que les extraits méthyliques fixaient seuls l'alexine à un taux beaucoup plus élevé qu'une quantité correspondante de bacilles intacts, émulsionnés dans l'eau physiologique. L'état physique intervient en effet ici et l'on conçoit que les substances incluses dans les corps microbiens aient *in vitro* une valeur fixatrice inférieure à celle des émulsions de lipoides. En réalité, la question de l'origine des anticorps est des plus complexes et n'a pas encore été résolue définitivement. L'antigène méthylique, en effet, n'est pas constitué uniquement par des phosphatides à l'état de pureté ; il renferme aussi, quoiqu'en très faible proportion, des protéines qui n'ont pas été éliminées au cours de l'extraction. L. NÈGRE et A. BOQUET ont même constaté que l'antigène méthylique purifié, débarrassé des protéines par précipitation, n'était plus antigénique.

Il s'ensuit que les réactions attribuées *in vitro* aux lipoides seuls peuvent être dues, en réalité, soit aux lipoides, soit aux protéines, soit enfin à des complexes lipoido-protéiques. MAYER et TERROINE ont en effet montré que les phosphatides et les protéines pouvaient s'associer étroitement en donnant des complexes lipoido-protéiques, solubles dans l'alcool.

En présence de ces faits, il est vraisemblable d'admettre que les divers antigènes du bacille participent *in vivo* à la production des sensibilisatrices ; selon l'expression de Ch. NICOLLE, il faut considérer le bacille tuberculeux comme une véritable « mosaïque d'antigènes ».

En accord avec cette conception, M. PINNER pense que les

(1) Cf. L. NÈGRE et A. BOQUET, *Le traitement de la tuberculose par l'antigène méthylique*, 1932, p. 22.

protéines bacillaires peuvent produire, *in vivo*, des anticorps (sensibilisatrices), mais à des taux relativement peu élevés ; leur importance dans la réaction de fixation du complément est de beaucoup inférieure à celle des lipoides solubles dans l'alcool.

Tout ceci nous paraît en accord avec les résultats obtenus au laboratoire de microbiologie de notre Faculté par Mlle E. CAMBOULIVES et par nous-même au cours des dernières années.

Les expériences de Mlle E. CAMBOULIVES ont porté sur les sérums tuberculeux humains ; les nôtres, sur les sérums d'animaux traités par des doses massives de bacilles morts.

Dans la majorité des cas, Mlle E. CAMBOULIVES a obtenu une déviation positive en présence de l'antigène méthylique ; elle n'a observé qu'exceptionnellement, avec les mêmes sérums, une déviation positive en présence de bacilles tuberculeux (formes jeunes) émulsionnés.

Inversement, chez les animaux injectés avec des doses massives de bacilles tués, nous avons constaté que la réaction de déviation, faiblement positive en présence d'antigène méthylique, se montrait au contraire fortement positive en présence de l'émulsion de bacilles tuberculeux.

Ces résultats peuvent s'expliquer, à notre avis, par le fait que les bacilles morts injectés à l'animal ne renfermeraient au stade jeune qu'une faible proportion de substances antigéniques du groupe des phosphatides ; d'où la faible teneur du sérum en anticorps susceptibles d'être décelés par l'extrait méthylique de phosphatides. Par contre, ces mêmes bacilles, injectés à doses massives, feraient naître des anticorps protéiques à un taux suffisamment élevé pour qu'il nous soit possible de les mettre en évidence en utilisant *in vitro* comme antigène l'émulsion bacillaire.

4° Le sang des animaux inoculés avec les bacilles morts (bacilles iodés, bacilles dégraissés), quoique riche en anticorps, ne renferme pas de substances bactéricides susceptibles d'empêcher le développement du bacille tuberculeux *in vitro*. Ces substances ne semblent pas exister non plus dans les extraits d'organes tels que la rate, chez les animaux immunisés.

CHAPITRE IV

PREMIERS ESSAIS DE VACCINATION ANTITUBERCULEUSE PAR LES BACILLES MORTS PROVENANT DE SOUCHES BOVINES VIRULENTES OU AVIRULENTES

Au cours de cette série préliminaire de recherches, nous avons étudié l'action préventive des bacilles tuberculeux tués, provenant de souches bovines plus ou moins virulentes âgées d'un mois. Ces bacilles sont totalement différents des bacilles au « stade jeune » précédemment envisagés.

Nous exposerons ici, successivement, le mode de préparation des différents vaccins utilisés et les essais de vaccination préventive que nous avons effectués chez le lapin.

1^o Préparation des vaccins.

Vaccin A (bacilles de KOCH bovins virulents portés à 120°).

A partir d'une culture âgée d'un mois de bacilles bovins très virulents (souche VALLÉE de l'Institut PASTEUR), cultivés sur pomme de terre glycinée à 5 %, nous préparons une émulsion dans l'eau carbonatée à 0 gr. 10 $\frac{0}{100}$. L'émulsion, très concentrée, est ensuite numérée suivant la technique de coloration au bleu de Nil et ramenée au taux de 1 milliard de bacilles par centi-

mètre cube, par addition d'eau carbonatée. Après addition d'un égal volume d'eau physiologique à 15 gr. de NaCl 0/100, ramenant le liquide à la concentration de 7 gr. 5 de NaCl et au taux de 500 millions de bacilles par centimètre cube, nous portons l'émulsion à l'autoclave à 120° pendant une demi-heure. Après refroidissement, nous répartissons aseptiquement en ampoules stériles.

Vaccin B (bacilles de KOCH bovins virulents traités par le bleu de Nil).

Dans la préparation de ce deuxième vaccin, les bacilles provenant également d'une souche bovine VALLÉE virulente âgée d'un mois, ont été modifiés par une série de traitements chimiques.

L'émulsion microbienne, effectuée dans les mêmes conditions que précédemment, est ramenée au taux de 500 millions de bacilles par centimètre cube. Nous notons alors un trait de repère délimitant le niveau du liquide dans le tube.

Après addition d'un égal volume de solution de chlorhydrate de bleu de Nil à 0 gr. 30 % dans l'eau distillée stérile, le mélange (bacilles vivants + colorant) est abandonné à la glacière à + 4° pendant dix jours et soumis, deux fois par jour, à une agitation de quelques minutes. A la sortie de la glacière, l'émulsion, après un séjour d'une heure à la température du laboratoire, est portée à l'étuve à 60° pendant une heure. Nous décantons alors le liquide surnageant le culot microbien fortement coloré en bleu et le remplaçons par de l'eau distillée stérile.

Nous laissons reposer pendant 48 heures à la glacière et effectuons un deuxième lavage à l'eau distillée. Après un nouveau séjour de 48 heures à la glacière, nous procédons à un troisième lavage, suivi d'un dernier séjour de 48 heures à la glacière et d'une dernière décantation.

Au cours de ces diverses opérations, le liquide coloré en bleu surnageant les bacilles s'est éclairci et est devenu à peu près incolore. Nous ramenons alors au volume primitif par addition d'eau physiologique à 7 gr. 5 de NaCl 0/100.

En dernier lieu, l'émulsion est additionnée de trioxyméthylène en solution sulfitée à la dose de 16 0/100.

Vaccin C (bacilles de KOCH bovins avirulents traités par le bleu de Nil).

La préparation de ce vaccin est absolument parallèle à celle du précédent, mais les bacilles utilisés proviennent ici d'une souche bovine avirulente, entretenue par repiquages fréquents au laboratoire depuis plusieurs années.

Vaccin D (bacilles de KOCH bovins virulents traités successivement par le bleu de Nil, l'acétone et l'éther).

Nous utilisons à nouveau, pour la préparation de ce vaccin, une culture d'un mois de bacilles bovins virulents (souche VALLÉE). La technique suivie est au début absolument parallèle à celle de la préparation du vaccin B. Mais à partir du troisième lavage, le liquide est transvasé dans un tube en verre épais renfermant des perles de verre ; le niveau est alors marqué sur le tube par un trait de repère. Après un séjour de 48 heures à la glacière, le liquide surnageant le culot microbien est décanté à la pipette à boules et remplacé par de l'acétone que nous laissons en contact 24 heures. Après décantation, nous ajoutons une nouvelle quantité d'acétone qui est à nouveau décantée après un contact de 12 heures. Nous portons alors à l'étuve à 37° pendant une demi-heure, afin d'éliminer par évaporation les dernières traces d'acétone.

Les bacilles sont repris par l'éther (24 heures de contact) ; après décantation du liquide, nous évaporons les dernières traces d'éther par passage à l'étuve à 37° pendant une heure.

En fin d'opération, nous ajoutons de l'eau physiologique stérile à 7 gr. 5 de NaCl 0/100, d'abord goutte à goutte, en agitant avec les perles de verre pour homogénéiser, puis plus rapidement jusqu'à obtention du volume initial. Nous terminons comme précédemment par l'addition de trioxyméthylène en solution sulfitée à la dose de 16 0/100.

2^o Vaccination préventive chez le lapin.

SÉRIE I.

La vaccination préventive a porté sur une série de douze lapins répartis comme suit :

Lapins N ^o 1,	n ^o 2,	n ^o 3,	traités par le vaccin A.			
Lapins n ^o 4,	n ^o 5,	n ^o 6,	»	»	»	B.
Lapins n ^o 7,	n ^o 8,	n ^o 9,	»	»	»	C.
Lapins n ^o 10,	n ^o 11,	n ^o 12,	»	»	»	D.

La série des injections a été effectuée par la voie veineuse aux doses suivantes :

Le 10 février 1931	1 cc. de vaccin (500 millions de bacilles).
Le 13 février	1 cc. de vaccin (500 millions de bacilles).
Le 16 février	1 cc. de vaccin (500 millions de bacilles).

Le 9 mars, soit trois semaines après la dernière injection, nous sacrifions un animal de chaque série afin de contrôler les effets des bacilles morts injectés.

Lapin N^o 1

(traité par les bacilles bovins virulents chauffés à 120°).

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 530 ; poids final : 2 kg. 615 ; augmentation de poids : 85 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons et reins* : Aspect normal.

Lapin N^o 4

(traité par les bacilles virulents mis au contact du bleu de Nil).

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 055 ; poids final : 2 kg. 380 ; augmentation de poids : 325 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons et reins* : Aspect normal.

Lapin N° 7

(traité par les bacilles avirulents mis au contact du bleu de Nil).

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 155 ; poids final : 2 kg. 140 ; pas de modification.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Non hypertrophiés, ils présentent sur le lobe droit inférieur quatre petites plages hémorragiques d'un rouge vineux.

Lapin N° 12

(traité par les bacilles bovins virulents mis au contact du bleu de Nil, de l'acétone et de l'éther.)

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 1 kg. 950 ; poids final : 1 kg. 940 ; pas de modification.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons et reins* : Aspect normal.

Nous pouvions conclure de cette série d'autopsies que les bacilles morts injectés à l'animal sain par la voie veineuse avaient été très bien supportés, aux doses injectées, ne déterminant pas d'abaissement du poids ni de lésions pulmonaires ou rénales.

3° Inoculation.

Le 10 mars 1931, soit 25 jours après la dernière injection, nous procédons à la tuberculisation des animaux ayant été soumis à la vaccination préventive ; parallèlement à trois lapins neufs destinés à jouer le rôle de témoins, ils reçoivent, dans la veine de l'oreille, 100.000 bacilles bovins virulents (souche VALLÉE de l'Institut PASTEUR).

Nous laissons vivre ces divers animaux jusqu'au mois de juin, soit environ quatre mois de vie utile ; et à ce moment-là nous les sacrifions parallèlement, afin de juger des résultats de la vaccination préventive par les bacilles morts.

4^o Résultats de l'expérimentation.

a) LAPINS TUBERCULEUX TÉMOINS N^o I, N^o II, N^o III.
Tuberculisés le 10 mars 1931.

Lapin témoin N^o I.

Sacrifié le 18 juin 1931.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 330 ; poids minimum : 1 kg. 820 (le 24 mars) ; poids maximum : 2 kg. 630 (le 5 mai) ; poids final : 2 kg. 570 ; augmentation de poids : 240 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Hypertrophiés, parsemés de granulations blanches, très caséuses, à contours irréguliers, parfois entourées d'un liseré gris.

Reins : Aspect normal. Pas de lésions apparentes.

Lapin témoin N^o II.

Sacrifié le 20 juin 1931.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 050 ; poids minimum : 1 kg. 930 (le 24 mars) ; poids maximum : 2 kg. 545 (le 24 avril) ; poids final : 2 kg. 300 ; augmentation de poids : 250 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Hypertrophiés ; nombreuses lésions caséifiées dont quelques-unes assez étendues. La zone centrale caséuse est parfois cerclée d'un bourrelet grisâtre.

Reins : Lésions rares et de dimensions réduites.

Lapin témoin N^o III.

Sacrifié le 20 juin 1931.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 580 ; poids

maximum : 2 kg. 885 (le 24 avril) ; poids final : 2 kg. 820 ; augmentation de poids : 240 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Fortement hypertrophiés, présentant de grandes plages, caséifiées au centre et circonscrites par une zone d'un gris violacé.

Reins : Lésions ne dépassant pas 2 mm. de diamètre.

b) LAPINS AYANT ÉTÉ SOUMIS A LA VACCINATION PRÉVENTIVE.

Série du vaccin A (bacilles virulents chauffés à 120°).

Lapin N° 2.

Tuberculisé le 10 mars ; sacrifié le 19 juin 1931.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial (début de la vaccination) : 2 kg. 185 ; poids au moment de la tuberculisation : 2 kg. 550 ; poids final : 2 kg. 850 ; augmentation de poids (à partir de la tuberculisation) : 300 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Hypertrophiés, présentant un aspect fortement hémorragique. Granulations blanches peu nombreuses et de petite taille.

Reins : Aspect normal.

Lapin N° 3.

Tuberculisé le 10 mars ; sacrifié le 18 juin 1931.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 290 ; poids au moment de la tuberculisation : 2 kg. 575 ; poids final : 2 kg. 780 ; augmentation de poids (à partir de la tuberculisation) : 205 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Hypertrophiés, présentant de grands placards hémorragiques. Lésions assez rares, caséifiées.

Série du vaccin B

(bacilles virulents mis au contact du bleu de Nil.)

Lapin N° 5.

Tuberculisé le 10 mars ; mort le 11 avril 1931, des suites d'une blessure accidentelle, accompagnée de suppuration.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 325 ; poids au moment de la tuberculisation : 2 kg. 600 ; poids final : 2 kg. 380 ; perte de poids (à partir de la tuberculisation) : 220 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Une seule granulation blanche, d'aspect crayeux.

Reins : Aspect normal.

Lapin N° 6.

Tuberculisé le 10 mars ; sacrifié le 19 juin 1931.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 215 ; poids au moment de la tuberculisation : 2 kg. 400 ; poids final : 2 kg. 785 ; augmentation de poids (à partir de la tuberculisation) : 385 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Faiblement hypertrophiés, parsemés de granulations blanches, dont quelques-unes présentent une auréole grisâtre.

Reins : Aspect normal.

Série du vaccin C

(bacilles avirulents mis au contact du bleu de Nil.)

Lapin N° 8.

Tuberculisé le 10 mars ; sacrifié le 19 juin 1931.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 500 ; poids au moment de la tuberculisation : 2 kg. 770 ; poids final : 2 kg. 980 ; augmentation de poids (à partir de la tuberculisation) : 210 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Faiblement hypertrophiés, présentant un aspect hémorragique très accentué. Lésions assez nombreuses mais de petite taille.

Reins : Rares granulations blanches.

Lapin N° 9.

Tuberculisé le 10 mars ; sacrifié le 19 juin 1931.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 030 ; poids au

moment de la tuberculisation : 2 kg. 175 ; poids final : 2 kg. 100 ;
perte de poids (à partir de la tuberculisation) : 75 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Hémorragiques par
places, présentant des granulations non caséifiées en général.

Reins : Aspect normal.

Série du vaccin D

(Bacilles virulents mis au contact du bleu de Nil,
de l'acétone et de l'éther.)

Lapin N° 10.

Tuberculisé le 10 mars ; tué le 21 juin 1931.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 510 ; poids au
moment de la tuberculisation : 2 kg. 710 ; poids final : 3 kg. ;
augmentation de poids (à partir de la tuberculisation) : 290 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Hypertrophiés, par-
semés de granulations caséuses atteignant 6 à 7 mm. de dia-
mètre.

Reins : Aspect normal.

Lapin N° 11.

Tuberculisé le 10 mars ; tué le 22 juin 1931.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 550 ; poids au
moment de la tuberculisation : 2 kg. 610 ; poids final : 3 kg. ;
augmentation de poids (à partir de la tuberculisation) : 390 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Granulations ca-
séesuses en assez grand nombre.

Reins : Aspect normal.

CONCLUSIONS

En résumé, nous pouvons tirer de cette première série d'expériences les conclusions suivantes :

1° Ni la vaccination préventive pratiquée par voie intraveineuse, ni l'inoculation virulente postérieurement effectuée, n'ont déterminé de chute de poids appréciable chez les animaux vaccinés ; d'ailleurs, les animaux témoins, dans leur ensemble, n'ont pas présenté de diminution de leur poids au cours de l'expérimentation (environ trois mois).

2° Les lésions pulmonaires, chez les lapins vaccinés préventivement, sont, dans l'ensemble, moins nombreuses et surtout bien moins étendues que chez les témoins ; ces derniers présentent en somme une tuberculose avec hypertrophie pulmonaire intense et grandes lésions ulcéro-caséuses. Les bacilles virulents tués par simple action de la chaleur à 120° semblent avoir eu une action favorable (nombre réduit des lésions pulmonaires) ; il en est de même pour les bacilles avirulents traités par le bleu de Nil. Les résultats fournis par les bacilles virulents traités par le bleu de Nil, et surtout par les mêmes bacilles mis au contact de l'acétone puis de l'éther, sont beaucoup moins favorables (lésions peu nombreuses mais plus extensives).

3° On note, chez les animaux vaccinés, la présence fréquente de placards hémorragiques pulmonaires. L'existence de ces hémorragies semble aller de pair avec un nombre réduit de lésions et une faible extension de ces dernières.

CHAPITRE V

ESSAIS DE VACCINATION PRÉVENTIVE ET CURATIVE CHEZ LE LAPIN

Nous avons procédé chez le lapin à divers essais de vaccination effectués soit à titre préventif, soit à titre curatif, avec les bacilles tuberculeux émulsionnables (formes jeunes), âgés de trois jours et diversement traités.

I. — Essais de vaccination préventive chez le lapin.

Ces essais ont porté sur deux séries d'animaux : La *série A*, comprenant les *lapins* N° 1, N° 2, N° 6, N° 7, injectés préventivement, soit par la voie intraveineuse seule, soit par voie intraveineuse puis sous-cutanée, avec des bacilles tuberculeux formolés (vaccin N° 2), à des doses variant au total de 3 milliards et demi à 5 milliards et demi.

Ces animaux ont été tuberculisés le 18 mars 1932 ; deux d'entre eux, les *lapins* N° 1 et N° 6, ont été soumis ultérieurement à une nouvelle série d'injections (doses variant de 3 milliards 250 millions à 4 milliards 125 millions).

La série A', comprenant les lapins N, NB, B et E. Ces derniers ont été traités, à titre préventif également, mais cette fois uniquement par voie sous-cutanée, avec des bacilles formolés (lapins N, NB, B) ou éthérés iodés formolés (lapin E). La quantité totale de bacilles injectés a été de 7 milliards 750 millions pour les animaux de cette série.

SÉRIE A.

1^o Traitement préventif (voie intraveineuse).

En janvier 1932, quatre lapins neufs (*lapins* N^o 1, N^o 2, N^o 6, N^o 7), sont injectés par voie intraveineuse avec des doses croissantes du vaccin formolé N^o 2.

Ils reçoivent :

Le	4 janvier 1932	...	1 cc. de vaccin	(250 millions de bacilles).
	9 janvier	— ...	2 cc. —	(500 — —).
	16 janvier	— ...	3 cc. —	(750 — —).
	22 janvier	— ...	4 cc. —	(1 milliard de bacilles).
	28 janvier	— ...	4 cc. —	(1 — —).

Soit 14 cm³ de vaccin renfermant 3 milliards et demi de bacilles morts.

Le traitement, suspendu chez les lapins N^o 6 et N^o 7, est repris le 6 février, mais cette fois par voie sous-cutanée chez les lapins N^o 1 et N^o 2 qui reçoivent parallèlement :

Le	6 février 1932		4 cc. de vaccin	(1 milliard de bacilles).
	12 février	— ..	4 cc. —	(1 milliard de bacilles).

Soit 8 cm³ de vaccin renfermant 2 milliards de bacilles formolés, ce qui porte à 5 milliards et demi la quantité totale de bacilles reçue par ces deux derniers animaux.

Nous avons contrôlé que la reprise du traitement ne déter-

minait pas d'hyperthermie chez l'animal. Les températures observées avant et après l'injection sont en effet les suivantes :

	Lapin N° 1	Lapin N° 2
Le 6 février :		
A 11 h. (avant l'injection)	38°1	38°3
A 17 h.	38°5	38°7
Le 7 février :		
A 11 h.	38°	38°2
A 17 h.	38°3	38°7

VARIATIONS DU POIDS. — Pendant la période de vaccination, nous avons suivi régulièrement la courbe des poids chez les animaux traités.

Lapins	N° 1	N° 2	N° 6	N° 7
<i>Poids initial</i> (4 janv. 1932)	2 kg. 090	2 kg. 440	2 kg. 580	2 kg. 800
<i>Poids maximum</i> (5 février).	2 kg. 455	2 kg. 715	2 kg. 800	2 kg. 150
<i>Poids avant la tuberculisation</i> (18 mars)	2 kg. 170	2 kg. 700	2 kg. 650	2 kg. 800

La progression du poids observée pendant la période d'injections a donc été suivie d'une légère chute au cours de la période de résorption microbiennne ; nous noterons toutefois qu'au moment où ces animaux ont été tuberculisés leur poids était encore nettement supérieur au poids initial.

RÉACTIONS SÉROLOGIQUES. — La réaction d'agglutination, effectuée à diverses reprises sur le sérum des animaux vaccinés, nous a fourni les résultats suivants :

Lapin N° 1

Le 24 février 1932 :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/25	+ + + + +	1/100	+ + — — —
1/50	+ + + + +	1/150	+ — — — —
1/65	+ + + + —	1/200	—
1/85	+ + + — —		

Le 12 mars 1932 :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/25	+ + + + +	1/100	—
1/50	+ + + + +	1/150	—
1/65	+ + — — —	1/200	—
1/85	—		

Lapin N° 2

Le 19 février 1932 :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + +	1/100	+ + — — —
1/65	+ + + + —	1/150	+ — — — —
1/85	+ + + — —		

Le 12 mars :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + +	1/100	—
1/65	+ + + + —	1/150	—
1/85	+ + — — —		

Lapin N° 6

Le 15 février :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/10	+ + + + +	1/85	+ + + — —
1/25	+ + + + +	1/100	+ + — — —
1/50	+ + + + +	1/150	—
1/65	+ + + + —		

Lapin N° 7

Le 19 février :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + +	1/100	+ — — — —
1/65	+ + + + —	1/150	—
1/85	+ + + — —	1/200	—

Le 11 mars :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/10	+ + + + +	1/50	—
1/20	+ + + + —	1/100	—
1/40	+ + + — —	1/150	—

De cet ensemble de réactions nous pouvons conclure que le taux des agglutinines, après avoir atteint un maximum, s'abaisse assez rapidement dans le sérum sanguin ; et nous devons noter ici qu'au moment de l'inoculation virulente (en mars 1932) le sérum des animaux vaccinés ne renfermait plus qu'une très faible proportion d'agglutinines.

2° Inoculation.

Le 18 mars, nous soumettons à l'inoculation virulente d'épreuve les lapins ayant subi le traitement préventif. Parallèlement à quatre lapins neufs (*lapins* N° 10, N° 11, N° 12, N° 13) destinés à servir d'animaux témoins, ils reçoivent par voie intra-veineuse 100.000 bacilles bovins virulents provenant d'une culture de 20 jours sur pomme de terre glycinée à 5 % (souche VALLÉE de l'Institut PASTEUR). Le lendemain 19 mars, nous contrôlons que l'inoculation n'a point entraîné d'hyperthermie chez les animaux préalablement vaccinés.

<i>Température le 19 mars</i>	<i>Lapin N° 1</i>	<i>Lapin N° 2</i>	<i>Lapin N° 6</i>	<i>Lapin N° 7</i>
A 11 h.	38°1	37°8	38°4	37°7
A 17 h.	37°5	37°9	38°6	37°9

Nous avons laissé vivre ces divers animaux jusqu'au début du mois de juillet 1932, période à laquelle ils ont été sacrifiés.

Dans l'exposé qui va suivre, nous consignons, pour chaque animal en expérience, les variations du poids, les résultats fournis par les réactions sérologiques (agglutination, déviation du complément), enfin, les résultats de l'autopsie.

1) LAPINS TUBERCULEUX TÉMOINS.

Lapin témoin N° 10

Inoculé le 18 mars ; sacrifié le 6 juillet 1932 (3 mois et demi de vie utile).

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 520 ; poids minimum (le 5 avril) : 2 kg. 060 ; poids final : 2 kg. 130 ; perte de poids : 390 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Effectuée le 13 mai, deux mois après l'inoculation :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/10	+ + — — —	1/25	—
1/15	+ — — — —	1/50	—

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Non hypertrophiés, parsemés de granulations blanches assez nombreuses, parfois entourées d'un bourrelet gris, et dont certaines atteignent 8 mm. × 5 mm.

Reins : Deux granulations blanches de 2 à 4 mm. de diamètre sur le rein droit.

Rate : D'aspect normal, ne présente qu'une seule granulation blanche de 2 mm. de diamètre.

Lapin témoin N° 11

Inoculé le 18 mars ; sacrifié le 6 juillet 1932.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids final : 2 kg. 440 ; poids minimum (le 5 avril) : 1 kg. 910 ; poids final : 1 kg. 950 ; perte de poids : 490 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Le 13 mai (deux mois après l'inoculation) :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/10	+ + + + —	1/25	—
1/15	+ — — — —	1/50	—

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Fortement hyper-

trophés, criblés de granulations blanches sur les lobes supérieurs ; lésions plus rares sur les lobes inférieurs. Aspect fortement hémorragique sur le lobe inférieur droit.

Reins : Faiblement hypertrophés, avec de rares lésions.

Rate : Une seule granulation, de petite taille.

Lapin témoin N° 12

Inoculé le 18 mars ; sacrifié le 11 juillet 1932.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 760 ; poids minimum (le 5 avril) : 2 kg. 280 ; poids final : 2 kg. 290 ; perte de poids : 470 gr.



FIG. 1. — Lapin témoin n° 12 (Poumons).

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Fortement hypertrophés, parsemés de granulations blanches ; quelques plages caséeuses très étendues.

Reins : Sur le rein droit, trois petites granulations blanches de 2 mm. de diamètre, une autre beaucoup plus étendue. Sur le rein gauche, trois granulations de 1 à 2 mm. de diamètre.

Rate : Non hypertrophiée, elle présente trois granulations blanches de faible diamètre.

Lapin témoin N° 13

Inoculé le 18 mars ; sacrifié le 7 juillet 1932.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 180 ; poids minimum (le 5 avril) : 1 kg. 670 ; poids final : 1 kg. 680 ; perte de poids : 500 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Le 13 mai (deux mois après la tuberculisation) :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/10	+++ ++	1/25	+ ---
1/15	+++ --	1/50	—

Le 7 juillet (trois mois et demi environ après la tuberculisation) :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/10	+ + - + +	1/50	+ + ---
1/15	+ + - - +	1/65	—
1/25	+++++		

RÉACTION DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT. — Effectuée le 8 juillet, elle s'est montrée négative avec les deux antigènes (antigène méthylique de NÈGRE et BOQUET et émulsion bacillaire).

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — De tous les animaux témoins, celui-ci est de beaucoup le plus envahi.

Poumons. — D'innombrables granulations blanches, caséuses, confluentes, recouvrent toute la surface des lobes pulmonaires hypertrophiés, ne laissant voir que par places un peu de tissu sain.

Reins : Faiblement hypertrophiés, présentant d'assez nombreuses lésions généralement peu étendues.

Rate : Aspect normal.

Examen histologique des coupes.

L'examen histologique des coupes décèle l'existence de nodules tuberculeux pulmonaires en caséification étendue et massive. De nombreuses cellules présentent un protoplasme en dégénérescence et des noyaux nécrosés. Les bacilles de Koch acido-résistants sont assez nombreux par places.

Dans l'ensemble, il reste peu de parenchyme pulmonaire sain.

2) LAPINS TUBERCULISÉS APRÈS VACCINATION PRÉVENTIVE.

Nous avons indiqué, au début de ce chapitre, les conditions dans lesquelles les lapins N° 1, N° 2, N° 6, N° 7, avaient été soumis successivement à la vaccination préventive, puis à l'inoculation virulente de 100.000 bacilles bovins.

Nous rappelons que les lapins N° 1 et N° 2 avaient reçu au total cinq milliards et demi de bacilles formolés ; les lapins N° 6 et N° 7, trois milliards et demi seulement de ces mêmes bacilles.

Nous avons laissé vivre jusqu'au début de juillet 1932 les lapins N° 2 et N° 7 sans leur faire subir aucun autre traitement.

Par contre, chez les lapins N° 1 et N° 6, une nouvelle série d'injections sous-cutanées a été pratiquée postérieurement à la tuberculisation et commencée un mois et demi environ après la date de celle-ci. Nous avons utilisé à partir de ce moment les bacilles iodés formolés.

a) *Lapins n'ayant pas subi de traitement curatif.*

Lapin N° 2

Vacciné à la dose de cinq milliards et demi de bacilles. Inoculé le 18 mars ; sacrifié le 7 juillet 1932.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids au moment de la tuberculisation : 2 kg. 700 ; poids le 5 avril : 2 kg. 860 ; poids final : 2 kg. 400 ; perte de poids : 300 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Le 13 mai (deux mois après la tuberculisation) :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/15	+ + + + +	1/65	—
1/25	+ + + + —	1/85	—
1/50	+ + — — —	1/100	—

Le 7 juillet :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/10	+ + + + +	1/65	—
1/25	+ + + — —	1/85	—
1/50	+ — — — —	1/100	—

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons*. — Non hypertrophiés, ils présentent d'assez nombreuses granulations d'aspect caséifié ; mais ces lésions sont restées peu étendues et mesurent en moyenne de 1 à 2 mm. de diamètre. Quelques rares granulations atteignent 4 mm. de diamètre.

Reins : Non hypertrophiés ; granulations rares, de 1 mm. de diamètre.

Rate : Aspect normal.

Lapin N° 7

Vacciné à la dose de 3 milliards et demi de bacilles. Inoculé le 18 mars ; sacrifié le 6 juillet 1932.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids au moment de la tuberculisation : 2 kg. 800 ; poids le 5 avril : 2 kg. 700 ; poids final : 2 kg. 620 ; perte de poids : 160 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Le 13 mai :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/15	+ + + + +	1/50	—
1/25	+ + + + +	1/85	—
1/40	+ — — — —	1/100	—

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Faiblement hyper-

trophés, avec lésions peu nombreuses, peu étendues (1 à 3 mm. de diamètre), d'aspect hémorragique par places, non caséifiées



FIG. 2. — **Lapin n° 7** vacciné préventivement (Poumons). Tuberculisé le 13 mars 1932, tué le 6 juillet 1932.

en général. Une seule plage plus étendue, de 6 mm. de diamètre, d'un rouge vineux avec points blancs caséifiés au centre.

Reins et Rate : Aspect normal.

Examen histologique des coupes.

L'examen histologique des coupes révèle chez ces animaux, en particulier chez le lapin N° 7, la présence de lésions pulmonaires peu extensives, très circonscrites, infiltrées de nombreux fibroblastes. Ces lésions sont le siège d'une réaction lymphoïde intense. Il y a peu de collagène. Les bacilles de KOCH sont

rares ou absents. Dans l'ensemble du poumon, les nodules tuberculeux demeurent très localisés ; le parenchyme pulmonaire situé entre les lésions est sain et bien conservé.

b) *Lapins vaccinés préventivement et ayant subi un traitement curatif.*

Lapin N° 1

Vacciné préventivement à la dose de 5 milliards et demi de bacilles. Inoculé le 18 mars ; sacrifié le 9 juillet 1932.

TRAITEMENT CURATIF :

29 avril 1932	:	1/4 cc.	vaccin iodé formolé (125 millions de bacilles.)	
6 mai	—	: 1/2 cc.	—	(259 —)
13 mai	—	: 1 cc.	—	(500 —)
20 mai	—	: 1 cc. 5	—	(750 —)
27 mai	—	: 2 cc.	—	(1 milliard de bacilles)
2 juin	—	: 2 cc.	—	(1 —)
10 juin	—	: 1 cc.	—	(500 millions de bacilles)

Soit au total 8 cm³ 25 de vaccin (4 milliards 125 millions de bacilles).

Au moment de la reprise du traitement, nous avons enregistré les températures suivantes :

Le 28 avril, à 17 h.		38°6
Le 29 avril, à 11 h. (avant l'injection)		38°5
— à 17 h.		39°3
Le 30 avril, à 11 h.		39°
— à 17 h.		38°8

A la cinquième injection, nous avons observé un abaissement très net de la température. :

Le 27 mai, à 11 h. (avant l'injection)		40°8
— à 17 h.		40°1
Le 28 mai, à 11 h.		39°5
— à 17 h.		39°4
Le 29 mai, à 11 h.		39°

Lors de la sixième injection, le même fait se reproduit :

Le 2 juin, à 11 h. (avant l'injection)	40°2
— à 17 h.	39°8
Le 3 juin, à 11 h.	39°6
— à 17 h.	39°9
Le 4 juin, à 11 h.	39°3

VARIATIONS DU POIDS. — Poids au moment de la tuberculisation : 2 kg. 170 ; poids le 5^e avril : 2 kg. 390 ; poids final : 1 kg. 950 ; perte de poids : 220 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Le 20 mai, soit trois semaines après la reprise du traitement, les résultats fournis sont les suivants :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/15	+++++	1/100	++++—
1/25	+++++	1/150	+++—
1/50	+++++	1/200	+—
1/85	+++++		

Le 9 juillet :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/25	+++++	1/100	++—
1/50	+++++	1/150	—
1/65	+++++	1/200	—

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Sensiblement hypertrophiés, ils montrent de nombreuses granulations caséuses, d'un diamètre moyen de 3 à 5 mm.

Reins : Granulations blanches atteignant jusqu'à 4 mm. de diamètre (sept sur le rein droit, une dizaine sur le rein gauche).

Rate : Hypertrophiée, présentant une dizaine de granulations caséuses dont une très proéminente.

Lapin N° 6

Vacciné préventivement à raison de 3 milliards et demi de bacilles. Inoculé le 18 mars, sacrifié le 11 juillet 1932.

TRAITEMENT CURATIF :

13 mai 1932	:	1/2 cc.	vaccin iodé formolé	(250 millions de bacilles)
20 mai	—	: 1 cc.	—	(500 — —)
27 mai	—	: 2 cc.	—	(1 milliard de bacilles)
2 juin	—	: 2 cc.	—	(1 — — —)
10 juin	—	: 1 cc.	—	(500 millions de bacilles)

En tout, 6 cm³ 5 de vaccin renfermant 3 milliards 250 millions de bacilles.

Les températures observées lors des troisième et quatrième injections nous ont indiqué une chute de température particulièrement sensible au surlendemain de l'injection.

Le 27 mai, à 11 h. (avant la 3 ^e injection).....	39°2
— à 17 h.	39°4
Le 28 mai, à 11 h.	39°
— à 17 h.	39°
Le 29 mai, à 11 h.	38°
Le 2 juin, à 11 h. (avant la 4 ^e injection)	39°
— à 17 h.	39°4
Le 3 juin, à 11 h.	39°
— à 17 h.	39°
Le 4 juin, à 11 h.	39°5

VARIATIONS DU POIDS. — Poids au moment de la tuberculisation (18 mars) : 2 kg. 650 ; poids le 5 avril : 2 kg. 390 ; poids final : 2 kg. 780 ; augmentation de poids : 130 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Le 13 mai, avant la reprise du traitement :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/15	++ ++	1/65	—
1/25	+ + — —	1/85	—
1/50	+ — — —	1/100	—

Le 11 juillet, soit un mois après l'arrêt des injections :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/25	+ — + +	1/150	—
1/50	+ + + +	1/200	—
1/100	— — — —		

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Faiblement hypertrophiés, d'aspect hémorragique par places. Granulations assez nombreuses, généralement punctiformes, grises, non caséifiées.

Reins : Le rein gauche est normal ; le rein droit montre une seule granulation blanche.

Rate : Faiblement hypertrophiée, sans granulations.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX LAPINS DE LA SÉRIE A.

En résumé, les résultats obtenus comparativement chez les animaux vaccinés et chez les animaux témoins sont les suivants :

a) L'évolution de la maladie se traduit par un abaissement du poids, parfois considérable chez les lapins tuberculeux témoins (390 gr. pour le lapin N° 10, 490 gr. pour le lapin N° 11, 470 gr. pour le lapin N° 12, 500 gr. pour le lapin N° 13), beaucoup moins accusé chez les animaux vaccinés soit à titre préventif seulement (300 gr. chez le lapin N° 2 et 160 gr. chez le lapin N° 7), soit à titre préventif et curatif (220 gr. chez le lapin N° 1). Dans un de ces derniers cas même (lapin N° 6), nous avons enregistré une augmentation de poids de 130 gr.

Chez les lapins témoins, nous avons en outre observé, lors de l'inoculation virulente, une première chute de poids qui, pour être passagère, n'en est pas moins fort appréciable (460 gr. pour le lapin N° 10, 530 gr. pour le lapin N° 11, 480 gr. pour le lapin N° 12, 410 gr. pour le lapin n° 13).

Cette chute s'est manifestée, quoique de manière moins sensible, chez les lapins ayant reçu à titre préventif la plus faible quantité de bacilles morts (260 gr. chez le lapin N° 6, 100 gr. chez le lapin N° 7) ; par contre, les lapins hypervaccinés ont accusé au même moment à la pesée une augmentation de poids, à savoir : 220 gr. pour le lapin N° 1, 160 gr. pour le lapin N° 2.

Ce sont là des résultats importants.

b) L'étude des réactions humorales nous a permis de déceler, chez les animaux tuberculeux témoins, la présence d'agglutinines, mais à un taux relativement faible (de 1/15 à 1/50) si

on le compare à ceux mentionnés précédemment pour les animaux vaccinés (1/150). Chez ces derniers, la réaction d'agglutination, effectuée postérieurement à la tuberculisation, nous a montré que le taux des agglutinines continue à s'abaisser dans le sang circulant et se stabilise autour de 1/40, chiffre voisin de ceux observés chez les animaux témoins.

Par contre, chez les lapins vaccinés préventivement et ayant subi un traitement curatif, le taux des agglutinines se relève dès la reprise des injections pour s'abaisser ensuite à nouveau.

c) Les résultats fournis par les diverses autopsies sont des plus intéressants ; ils sont d'ailleurs confirmés par l'examen histologique des coupes. A l'exception du lapin N° 10 qui demeure peu envahi, les témoins présentent une hypertrophie pulmonaire intense. Au bout de quatre mois environ de vie utile, l'envahissement massif des poumons par de nombreuses granulations caséuses, parfois confluentes, est le signe d'une évolution tuberculeuse des plus graves et relativement rapide.

Chez les lapins vaccinés préventivement, l'hypertrophie pulmonaire est au contraire nulle ou très peu accusée. Les lésions tuberculeuses, parfois assez nombreuses mais toujours en nombre beaucoup plus réduit que chez les témoins, demeurent petites, comme avortées sur place ; les grandes plages caséifiées confluentes, fréquentes dans le cas des témoins, sont ici inexistantes ou très rares.

L'aspect le plus favorable se rencontre chez le lapin N° 7 dont les lésions pulmonaires peu nombreuses, non caséifiées, se présentent sous forme de petites taches hémorragiques, parfois punctiformes.

Enfin, dans le cas des lapins vaccinés préventivement et ayant subi un traitement curatif, on constate que les injections de bacilles morts sont bien supportées et ne déterminent pas d'élévation thermique. Il semble toutefois qu'à doses élevées le vaccin, au point de vue curatif, soit nocif pour l'organisme et favorise l'évolution de la maladie.

Ainsi, l'introduction des bacilles morts et de leurs poisons dans l'organisme tuberculeux n'apparaît pas sans danger. En

effet, chez le lapin N° 1, elle a bien certainement aggravé l'évolution de la maladie, favorisant l'hypertrophie pulmonaire et la multiplication des lésions qui rappellent, par leur aspect, celles des animaux témoins. Il paraît exister un rapport plus ou moins étroit entre la quantité de bacilles injectés à titre curatif et l'évolution de la maladie. Le lapin N° 6, qui a reçu une quantité moindre de bacilles, offre à l'autopsie un aspect très différent et nettement favorable. Il est juste de noter que le traitement curatif, pour cet animal, a été commencé plus tard que chez le lapin N° 1, ce qui constitue un facteur également important.

d) Au point de vue du rapport susceptible d'exister entre le taux des anticorps chez l'animal et le degré de résistance de l'organisme, nous sommes amenée à conclure qu'une faible teneur en agglutinines peut aller de pair avec un état de résistance très marqué. La présence des anticorps dans le sang marque l'infestation ; mais leur disparition ne traduit pas forcément la diminution du degré de l'immunité contractée.

SÉRIE A'

1° Traitement préventif (voie sous-cutanée).

Une nouvelle série de trois lapins, les *lapins B, NB, N*, est injectée, de juillet à octobre 1932, mais cette fois uniquement par la voie sous-cutanée, avec des doses croissantes de bacilles iodés formolés. Un quatrième animal, le *lapin E*, est traité parallèlement par des doses équivalentes de bacilles éthérés iodés (1).

(1) Ces injections ont été effectuées par M. le docteur POURQUIER, directeur de l'Institut vaccinal de Montpellier ; nous lui adressons ici tous nos remerciements.

Ces divers animaux reçoivent successivement, tous les six jours au début, puis tous les sept jours :

Le 31 juillet 1932 :	1/2 cc. de vaccin (250 millions de bacilles)				
6 août —	1 cc. —	—	(500 —	—	—)
12 août —	1 cc. 5 —	—	(750 —	—	—)
18 août —	2 cc. —	—	(1 milliard	—	—)
25 août —	2 cc. —	—	(1 —	—	—)
1 ^{er} septembre	2 cc. —	—	(1 —	—	—)
8 septembre	2 cc. —	—	(1 —	—	—)

Après une période d'arrêt de vingt jours, le traitement est repris de la manière suivante :

Le 28 septembre :	1 cc. de vaccin (500 millions de bacilles)				
5 octobre :	1 cc. 5 —	—	(750 —	—	—)
12 octobre :	2 cc. —	—	(1 milliard —	—	—)

Soit en tout 7 milliards 750 millions de bacilles morts.

Le 29 novembre, nous soumettons les animaux vaccinés à l'épreuve de la tuberculine en pratiquant sur eux l'ophtalmo-réaction, déjà décrite dans un précédent chapitre. Ici encore, la réaction tuberculinique est demeurée négative. Par contre, les réactions d'agglutination et de déviation du complément nous ont permis de déceler une abondante production d'anti-corps dans le sérum des animaux vaccinés.

La réaction d'agglutination, effectuée à deux reprises, nous a fourni les résultats suivants qui démontrent l'abaissement rapide du taux limite d'agglutination dans le sang circulant.

Lapin B

Le 7 novembre :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + +	1/300	+ — — — —
1/100	+ + + + +	1/350	+ — — — —
1/150	+ + + + +	1/400	—
1/200	+ + + + —		

Le 26 novembre :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + +		
1/100	+ + + + —	1/200	+ — — — —
1/150	+ + — — —	1/300	—

Lapin NB

Le 7 novembre :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + —	1/200	—
1/100	+ + — — —	1/250	—
1/150	—		

Le 26 novembre :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + —	1/200	—
1/100	—	1/250	—
1/150	—		

Lapin N

Le 7 novembre :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + +	1/200	+ + — — —
1/100	+ + + + +	1/250	+ — — — —
1/150	+ + + + +	1/300	—

Le 26 novembre :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + +	1/200	—
1/100	+ — — — —	1/250	—
1/150	+ — — — —	1/300	—

Lapin E

(injecté avec les bacilles éthérés)

Le 7 novembre :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + +	1/250	+ + — — —
1/100	+ + + + +	1/350	—
1/200	+ + + + +	1/400	—

Nous avons également recherché, dans le sérum des animaux vaccinés, les anticorps du groupe des sensibilisatrices. La réaction de déviation du complément a été effectuée le 14 novembre chez les *lapins N, B et E* (1), nous donnant les résultats suivants :

Lapin N

RÉACTION

Alexine au 1/15		Résultat en présence d'antigène méthylique	Résultat en présence d'antigène microbien
1)	0 cc. 1	Hp	H ^o
2)	0 cc. 2	H ^t	H ^o
3)	0 cc. 3	$\overline{H^t}$	Hp
4)	0 cc. 4	H ^t	Hp
5)	0 cc. 5	H ^t	$\overline{H^t}$
6)	0 cc. 6	H ^t	$\overline{H^t}$

TÉMOINS

Alexine au 1/15		Témoin sérum	Témoin antigène (émulsion bacillaire)
1)	0 cc. 1	H ^t	Hp
2)	0 cc. 2	$\overline{H^t}$	H ^t
3)	0 cc. 3	H ^t	$\overline{H^t}$

Lapin B

RÉACTION

Alexine au 1/15		Résultat en présence d'antigène microbien
1)	0 cc. 1	H ^o
2)	0 cc. 2	Hp
3)	0 cc. 3	Hp
4)	0 cc. 4	H ^t
5)	0 cc. 5	$\overline{H^t}$
6)	0 cc. 6	H ^t

(1) Pour ces deux derniers animaux, la faible quantité de sérum dont nous disposions ne nous a permis d'effectuer qu'une seule réaction, en utilisant comme antigène l'émulsion bacillaire.

TÉMOINS

Alexine au 1/15		Témoin sérum	Témoin antigène (émulsion bacillaire)
1)	0 cc. 1	H ^t	Hp
2)	0 cc. 2	H ^t	H ^t
3)	0 cc. 3	H ^t	H ^t

Lapin E

RÉACTION

Alexine au 1/15		Résultat en présence d'antigène microbien
1)	0 cc. 1	H ^o
2)	0 cc. 2	Hp
3)	0 cc. 3	Hp
4)	0 cc. 4	H ^t
5)	0 cc. 5	H ^t
6)	0 cc. 6	H ^t

TÉMOINS

Alexine au 1/15		Témoin sérum	Témoin antigène (émulsion bacillaire)
1)	0 cc. 1	H ^t	Hp
2)	0 cc. 2	H ^t	H ^t
3)	0 cc. 3	H ^t	H ^t

2° Inoculation.

Le 2 décembre 1932, nous procédons à la tuberculisation des animaux vaccinés auxquels nous adjoignons trois lapins neufs (*lapins* N° 1, N° 2, N° 3) jouant le rôle de témoins tuberculeux; les uns et les autres sont inoculés avec 100.000 bacilles bovins virulents provenant d'une souche VALLÉE sur pomme de terre glycélinée à 5 %.

1) LAPINS TUBERCULEUX TÉMOINS.

Les lapins N° 2 et N° 3 meurent malencontreusement d'af-

fection intercurrente dans le mois qui suit l'inoculation virulente.

Le 19 décembre, toutefois, nous avons effectué la réaction d'agglutination.

Lapin N° 2

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/5	+ + + + +	1/40	+ + + + —
1/10	+ + + + +	1/50	+ + — — —
1/15	+ + + + +	1/75	—
1/30	+ + + + +		

Lapin N° 3

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/5	+ + + + —	1/40	—
1/10	+ + + — —	1/50	—
1/15	—	1/75	—
1/30	—		

Lapin N° 1

Inoculé le 2 décembre 1932 ; mort le 5 mars 1933, après trois mois seulement de vie utile.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 3 kg. 220 ; poids final : 1 kg. 990 ; perte de poids : 1 kg. 230.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Le 20 janvier 1933 :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/5	+ + + + —	1/30	—
1/10	+ + + — —	1/50	—
1/15	—	1/75	—

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Faiblement hypertrophiés. Lésions assez peu nombreuses, mais étendues, caséifiées, parfois entourées d'un bourrelet grisâtre. Quelques points hémorragiques sur le lobe inférieur droit.

Reins et Rate : Aspect normal.

2) LAPINS TUBERCULEUX AYANT ÉTÉ SOUMIS
A LA VACCINATION PRÉVENTIVE.

Lapin B

Vacciné à raison de 7 milliards 750 millions de bacilles tuberculeux iodés formolés. Inoculé de tuberculose virulente le 2 décembre 1932 ; sacrifié le 19 mai 1933, l'animal présentant à ce moment-là une paralysie de l'arrière-train.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids au moment de la tuberculisation : 2 kg. 010 ; poids final : 2 kg. 460 ; augmentation de poids : 450 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Le 18 mars 1933, soit deux mois et demi après la tuberculisation :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/25	+ + + — —	1/100	—
1/50	+ + — — —	1/150	—
1/75	+ — — — —		

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Non hypertrophiés, présentant des granulations de petite taille, circonscrites par un bourrelet gris. Les ganglions trachéo-bronchiques sont très développés.

Reins : Lésions rares. Pas d'hypertrophie.

Lapin NB

Vacciné à la dose de 7 milliards 750 millions de bacilles tuberculeux iodés formolés. Inoculé le 2 décembre 1932 ; sacrifié le 15 juin 1933, après six mois et demi de vie utile.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids au moment de la tuberculisation : 2 kg. 570 ; poids final : 2 kg. 210 ; perte de poids : 360 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Le 18 mars 1933 :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/25	+ — — — —	1/100	—
1/50	—	1/150	—

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Faiblement hypertrophiés, parsemés de taches punctiformes hémorragiques ; les lésions sont en nombre limité, et certaines d'entre elles présentent, autour d'une zone centrale blanche, caséifiée, une auréole rougeâtre d'aspect hémorragique.

Reins : Faiblement hypertrophiés, avec granulations blanches dépassant rarement 1 mm. de diamètre.

Rate : Aspect normal.

Lapin N

Vacciné à la dose de 7 milliards 750 millions de bacilles. Inoculé le 2 décembre 1932 ; sacrifié le 20 juin 1933, après six mois et demi de vie utile.

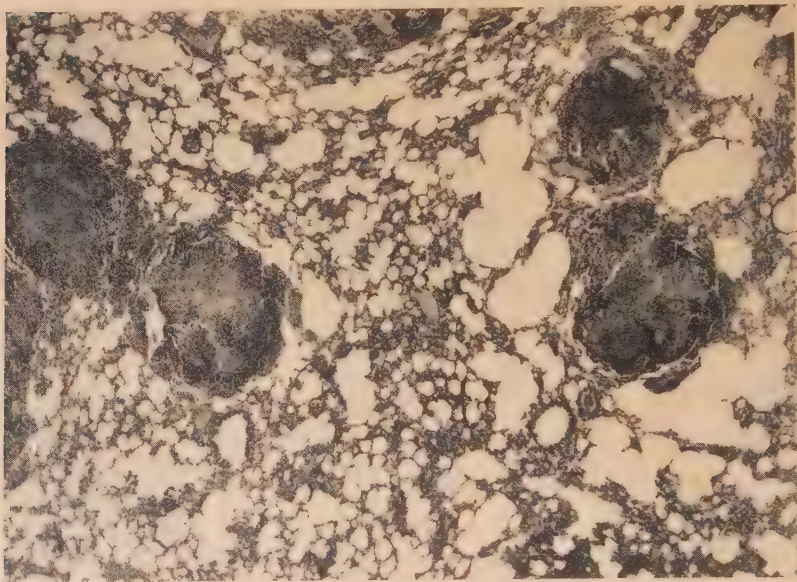


FIG. 3. — **Lapin N** (vacciné préventivement).
Poumon présentant des lésions très circonscrites, non extensives.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids au moment de la tuberculisation : 2 kg. 240 ; poids final : 2 kg. 540 ; augmentation de poids : 300 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Le 18 mars 1933.

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/25	+ + — — —	1/100	—
1/50	+ — — — —	1/150	—

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Hypertrophie pratiquement insignifiante. Granulations blanches en nombre réduit n'excédant pas une douzaine sur la face supérieure des lobes inférieurs.

Reins, Rate : Aspect normal.

Lapin E

Vacciné à la dose de 7 milliards 750 millions de bacilles éthérés-iodés. Inoculé le 2 décembre 1932 ; sacrifié le 20 juin 1933.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids au moment de la tuberculisation : 2 kg. 330 ; poids final : 2 kg. 430 ; augmentation de poids : 100 gr.

La RÉACTION D'AGGLUTINATION n'a pas été pratiquée en raison de certaines difficultés de prélèvement résultant de la forte viscosité du sang.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Fortement hypertrophiés. Les lésions ne sont pas très nombreuses, mais, d'aspect caséeux, elles sont très étendues et atteignent jusqu'à 1 cm. de diamètre. Les lobes supérieurs gauches sont particulièrement envahis.

Reins, Rate : Aspect normal.

Examen histologique des coupes (FIG. 3).

Les résultats fournis par l'examen histologique des coupes chez les lapins B, NB, N, sont en tous points comparables à ceux de la série précédente : lésions très circonscrites présentant une réaction lymphoïde intense, avec peu ou pas de bacilles de KOCH acido-résistants. Les lésions observées chez le lapin E, au contraire, se rapprochent de celles déjà décrites chez les animaux témoins, qui sont le siège d'une caséification intense.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX LAPINS DE LA SÉRIE A'.

L'interprétation de cette série d'expériences nous a été rendue difficile par la disparition prématurée des animaux témoins. Nous noterons toutefois que l'un d'eux, mort après trois mois de vie utile, présentait déjà un amaigrissement considérable et révélait, à l'autopsie, une hypertrophie pulmonaire marquée et l'existence de lésions étendues, caséifiées, quoique peu nombreuses.

D'ailleurs, les conditions de l'expérimentation étant toujours identiques et le nombre des bacilles virulents injectés toujours constant, nous pouvons, comparativement avec d'autres animaux témoins inoculés avec la même souche, aboutir aux conclusions suivantes.

a) La vaccination préventive par les bacilles iodés-formolés ou éthérés-iodés-formolés, aux doses indiquées, a créé chez l'animal un état de résistance appréciable qui se traduit, six mois après la tuberculisation, par une augmentation sensible du poids (exception faite pour le lapin NB, dont le taux d'agglutination était d'ailleurs le moins élevé).

b) Au point de vue humoral, les conclusions sont absolument comparables à celles fournies par la série précédente : abaissement progressif du taux des agglutinines dans le sérum des animaux vaccinés ; faible teneur en agglutinines du sérum des animaux témoins.

La réaction de déviation du complément révèle également la présence de sensibilisatrices chez les animaux vaccinés.

c) A l'autopsie, l'absence d'hypertrophie pulmonaire, le nombre limité des lésions et leur faible étendue témoignent de la résistance de l'organisme à l'infection tuberculeuse.

Les bacilles préalablement dégraissés par l'éther se sont montrés moins efficaces que les bacilles non dégraissés — ceci en accord avec les auteurs.

II. — Essais de vaccination uniquement curative chez le lapin.

Nos essais de vaccination curative chez le lapin ont porté sur trois séries d'animaux :

La *série B1*, comprenant les lapins N° 1, N° 2, N° 3, N° 5, N° 6, N° 7, tuberculisés le 18 mars 1932 ; postérieurement à la tuberculisation, ces animaux ont été traités, soit par la voie sous-cutanée seule, soit par voie intraveineuse puis sous-cutanée, avec des doses croissantes de bacilles tuberculeux iodés-formolés (au total 6 milliards 250 millions).

La *série B2* comprenant les *lapins* N° 4, N° 5, N° 6, N° 7, inoculés le 2 décembre 1932, puis traités par des doses massives de bacilles tuberculeux dégraissés (vaccin éthéré-iodé-formolé). Les doses de microbes injectés par la voie sous-cutanée ont varié, pour cette série, de 15 milliards et demi à 28 milliards.

La *série B3*, inoculée le 7 mars 1933 et comprenant les *lapins* N° 2 et N° 3. Ces derniers ont été traités par la voie sous-cutanée avec des doses massives de bacilles dégraissés par l'acétone et l'éther, puis iodés et formolés (au total, 15 milliards et demi de bacilles).

SÉRIE B1

1° Inoculation.

Le 18 mars 1932, parallèlement aux lapins de la série A (vaccinés préventivement) et aux lapins témoins de cette série (1), six lapins neufs, les *lapins* N° 1, N° 2, N° 3, N° 5, N° 6, N° 7, sont tuberculisés par voie intraveineuse avec 100.000 bacilles bovins virulents (souche VALLÉE).

(1) Voir page 127.

2^o Traitement curatif.

Ces animaux ont été répartis en deux lots :

1) Les *lapins* N^o 1, N^o 2, N^o 3, N^o 5, traités uniquement par la voie sous-cutanée ; ils sont injectés, tous les six ou sept jours, avec des doses croissantes de bacilles iodés-formolés, à savoir :

Le 19 mars 1932	: 1/4 de cc.	de vaccin (125 millions de bacilles)				
25 mars	— : 1/2 cc.	—	—	(250	—	—)
31 mars	— : 3/4 de cc.	—	—	(375	—	—)
7 avril	— : 1 cc.	—	—	(500	—	—)
14 avril	— : 1 cc. 5	—	—	(750	—	—)
22 avril	— : 2 cc.	—	—	(1 milliard	—	—)
29 avril	— : 2 cc.	—	—	(1	—	—)

Soit 8 cm³ de vaccin renfermant 4 milliards de bacilles.

Après un temps d'arrêt, les injections sont reprises aux doses suivantes :

Le 20 mai	: 1/2 cc.	de vaccin (250 millions de bacilles)				
27 mai	: 1 cc.	—	(500	—	—	)
3 juin	: 2 cc.	—	(1 milliard	—	—	)
10 juin	: 1 cc.	—	(500 millions	—	—	)

Soit, pour cette dernière série d'injections, 2 milliards 250 millions de bacilles, et, au total, 6 milliards 250 millions.

2) Les *lapins* N^o 6 et N^o 7 ont reçu au total les mêmes doses de bacilles que les animaux précédents, mais ici les quatre premières injections ont été effectuées par voie intraveineuse (veine de l'oreille, alternativement à l'oreille droite et à l'oreille gauche). Par la suite, le traitement a été absolument parallèle à celui des *lapins* N^o 1, N^o 2, N^o 3 et N^o 5.

RÉACTIONS THERMIQUES.

Nous avons jugé intéressant, à diverses reprises, de suivre les variations de la température chez les animaux traités, lors des injections de vaccin. Les températures enregistrées sont consi-

gnées dans le tableau suivant ; il met en évidence que l'injection du vaccin détermine nettement, 24 heures après, un abaissement de température voisin d'un degré.

	Lapin n°1	Lapin n°2	Lapin n°3	Lapin n°6	Lapin n°7
<i>A la quatrième injection :</i>					
Le 6 avril, à 17 h.	38°9	39°		39°4	38°9
7 avril, à 11 h. (avant injection)	39°	39°2		39°1	39°2
— à 17 h.	39°	39°1		39°6	39°
8 avril, à 11 h.	38°6	38°6		38°9	39°1
— à 17 h.	38°5	38°5		39°3	39°
<i>A la septième injection :</i>					
e 28 avril, à 17 h.		39°		38°9	
e 29 avril, à 11 h. (avant injection).		38°9		39°1	
— à 17 h.		39°5		39°5	
e 30 avril, à 11 h.		38°7		39°1	
— à 17 h.		38°4		38°6	
<i>A la neuvième injection :</i>					
e 27 mai, à 11 h. (avant injection).		40°1	39°8	39°2	
— à 17 h.		40°3	39°4	38°8	
e 28 mai, à 11 h.		39°5	39°2	38°4	
— à 17 h.		39°4	39°2	39°1	
e 29 mai, à 11 h.		38°	39°	38°8	

3^o Résultats de l'expérimentation.

A l'exception du lapin N^o 1 qui a succombé, un mois environ après l'inoculation virulente, des suites d'un traumatisme, ces divers animaux sont morts ou ont été sacrifiés au bout de trois à quatre mois de vie utile.

1) LAPINS VACCINÉS UNIQUEMENT PAR LA VOIE SOUS-CUTANÉE.

Lapin N^o 1

Tuberculisé le 18 mars ; mort le 10 avril 1932, des suites d'un accident traumatique.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 700 ; poids final : 2 kg. 500 ; perte de poids : 200 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : D'aspect faiblement hémorragique, sans lésions.

L'animal présente un abondant épanchement de liquide d'ascite, consécutif à des phénomènes traumatiques accidentels ayant entraîné la mort.

Lapin N^o 2

Tuberculisé le 18 mars ; mort le 24 juin 1932, après trois mois de vie utile.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 775 ; poids final : 1 kg. 730 ; perte de poids : 1 kg. 045.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Effectuée le 10 mai, dix jours après la première série d'injections (4 milliards de bacilles en un mois et dix jours).

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/25	+ + + + +	1/100	+ + + + —
1/50	+	1/150	+ — — — —
1/65	+ + + + +	1/200	+ — — — —
1/85	+ + + + +		

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Hypertrophiés, ils présentent des lésions multiples, caséifiées (granulie caséuse). Le poumon droit offre, par endroits, un aspect hémorragique.

Reins : Parsemés de fines granulations dont la plupart ne dépassent pas 1 mm. de diamètre.

Rate : Aspect normal.

Lapin N° 3

Tuberculisé le 18 mars ; mort le 8 juillet 1932, après trois mois et demi de vie utile.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 810 ; poids le 5 avril : 2 kg. 400 ; poids final : 2 kg. 250 ; perte de poids : 560 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Le 10 mai 1932 :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/25	+ + + + +	1/100	+ + + + +
1/50	+ + + + +	1/150	+ + + + +
1/65	+ + + + +	1/200	+ + + + +
1/85	+ + + + +		

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Considérablement hypertrophiés, d'aspect œdémateux ; le poumon gauche est fortement hémorragique. Les lésions sont nombreuses, très étendues (certaines atteignant 1 à 2 cm. de long sur 5 à 7 mm. de large), et, pour la plupart, caséifiées.

Reins : Hypertrophiés, montrant d'assez nombreuses granulations, volumineuses, proéminentes.

Rate : Aspect normal.

Lapin N° 5

Tuberculisé le 18 mars (inoculation défectueuse, effectuée en deux temps) ; tué le 11 juillet 1932.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 3 kg. 300 ; poids le 5 avril : 3 kg. 080 ; poids final : 3 kg. 060 ; perte de poids : 240 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Le 10 mai 1932 :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1 /25	+ + + + +	1 /100	+ + + + —
1 /50	+ + + + +	1 /150	+ + — — —
1 /65	+ + + + +	1 /200	+ — — — —
1 /85	+ + + + —		

Le 11 juillet :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1 /25	+ + + + —	1 /150	—
1 /50	+ + + + +	1 /200	—
1 /100	+ + + + —		

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Très faiblement hypertrophiés, parsemés de lésions proéminentes, parfois volumineuses, de consistance dure sous la pince.

Reins : Non hypertrophiés, sans granulations.

2) LAPINS VACCINÉS PAR LA VOIE VEINEUSE
PUIS PAR LA VOIE SOUS-CUTANÉE.

Lapin N° 6

Tuberculisé le 18 mars ; sacrifié le 11 juillet 1932.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 410 ; poids le 5 avril : 1 kg. 990 ; poids final : 2 kg. ; perte de poids : 410 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION, — Le 10 mai 1932 :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1 /25	+ + + + +	1 /100	+ + + + +
1 /50	+ + + + +	1 /150	+ + + + +
1 /65	+ + + + +	1 /200	— + — — —
1 /85	+ + + + +		

Le 11 juillet :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1 /25	+ + + + +	1 /150	— — — — —
1 /50	+ + + + +	1 /200	—
1 /100	+ + + + +		

RÉACTION DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT. — Le 11 juillet (tardivement), nous notons une réaction négative en présence de l'antigène méthylique et de l'émulsion bacillaire.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Hypertrophiés, présentant des granulations proéminentes et caséuses, d'un diamètre moyen variant de 1 à 6 mm.

Reins : Lésions plutôt rares, de 1 à 2 mm. de diamètre. Sur le rein droit, deux granulations plus volumineuses, de 4 et 5 mm.

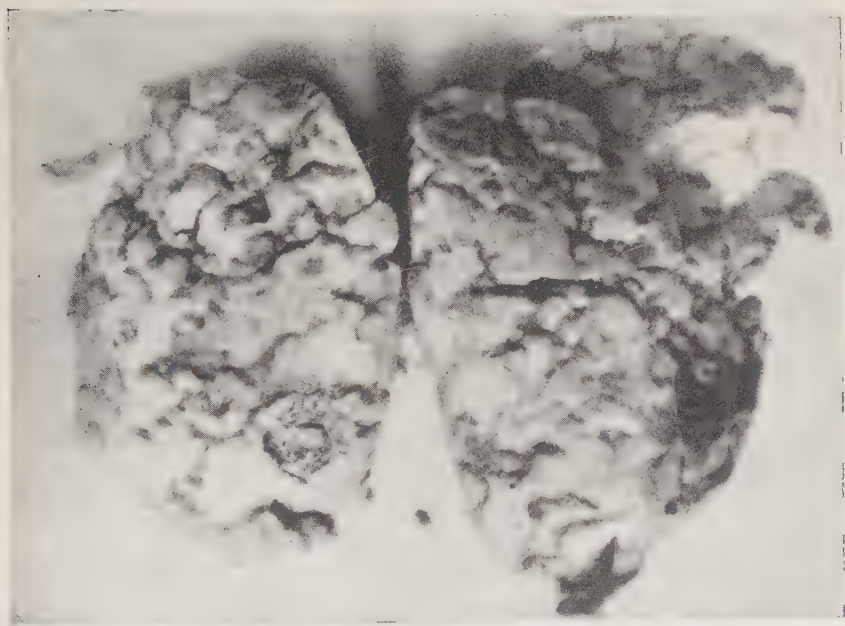


FIG. 4. — Lapin n° 7
Traité curativement (Poumons).

Lapin N° 7

Tuberculisé le 18 mars ; sacrifié le 6 juillet 1932.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 550 ; poids le 5 avril : 2 kg. 230 ; poids final : 2 kg. 330 ; perte de poids : 220 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Le 10 mai 1932 :

<i>Dilutions du sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/25	+ + + + +	1/100	+ — — — —
1/50	+ + + + —	1/150	—
1/65	+ + — — —	1/200	—
1/85	+ — — — —		

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Ils sont le siège d'une hypertrophie considérable et envahis de lésions caséuses, confluentes, donnant à l'organe un aspect lardacé (Fig. 4).

Reins : Granulations nombreuses sur le rein gauche, rares sur le rein droit, d'un diamètre moyen de 2 à 3 mm.

SÉRIE B2.

1^o Inoculation.

Le 2 décembre 1932, en même temps que les lapins de la série A' et les lapins témoins N^o 1, N^o 2, N^o 3, quatre lapins neufs, les *lapins* N^o 4, N^o 5, N^o 6, N^o 7, ont été tuberculisés avec 100.000 bacilles bovins virulents; (souche VALLÉE). Ces animaux, constituant la série B2, ont été traités ultérieurement avec des doses massives de bacilles tuberculeux dégraissés (vacin éthéré-iodé-formolé).

2^o Traitement curatif chez les lapins de la série B2.

Le traitement, effectué uniquement par voie sous-cutanée, est commencé dès le lendemain de l'inoculation virulente.

1) Les *lapins* N^o 6 et N^o 7 reçoivent progressivement :

Le 3 décembre 1932 :	2 milliards et demi de bacilles.
7 décembre — :	5 milliards de bacilles.
12 décembre — :	5
16 décembre — :	5
20 décembre — :	5

Soit en tout 22 milliards et demi de bacilles inoculés en treize jours.

2) Les lapins N° 4 et N° 5 sont soumis à une série de trois injections et reçoivent :

Le 3 décembre 1932 : 2 milliards et demi de bacilles.

7 décembre — : 5 milliards de bacilles.

12 décembre — : 8 milliards —

Soit au total : 15 milliards et demi de bacilles.

Après un temps d'arrêt d'un mois et demi environ, les injections sont reprises, mais seulement chez le lapin N° 4, aux doses suivantes :

Le 30 janvier 1933 : 100 millions de bacilles (à 11 h.)

— — : 500 — — (à 17 h.)

Le 31 janvier 1933 : 1 milliard — — (à 11 h.)

— — : 1 — — — (à 17 h.)

Le 5 février 1933 : 5 milliards — —

Le 11 février — : 5 — — —

Le lapin N° 4 a donc ainsi reçu 28 milliards 100 millions de bacilles.

3° Résultats de l'expérimentation.

Lapin N° 7

Tuberculisé le 2 décembre 1932 ; mort le 6 janvier 1933, après seulement un mois de vie utile.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 050 ; poids final : 2 kg. ; perte de poids : 50 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — Absence totale de lésions.

Lapin N° 6

Tuberculisé le 2 décembre 1932 ; sacrifié le 1^{er} juin 1933.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 070 ; poids final : 2 kg. 020 ; perte de poids : 50 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Effectuée le 9 janvier, vingt jours après la dernière injection vaccinale :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + +	1/600	+ + — — —
1/100	+ + + + +	1/700	+ + — — —
1/200	+ + + + +	1/800	+ + — — —
1/400	+ — — — —	1/900	+ — — — —

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Envahis de lésions caséuses atteignant jusqu'à 1 cm. de diamètre.

Hypertrophie considérable des lobes pulmonaires.

Reins : Granulations rares, de 1 à 2 mm. de diamètre.

Rate : Aspect normal.

Lapin N° 4

Tuberculisé le 2 décembre 1932 ; mort le 27 mars 1933, un mois et demi après la fin de la deuxième série d'injections.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 580 ; poids final : 2 kg. 050 ; perte de poids : 530 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Le 22 décembre 1932, dix jours après la fin de la première série d'injections :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + +	1/350	+ + + + —
1/100	+ + + + +	1/600	+ + — — —
1/150	+ + + + +	1/700	+ + — — —
1/200	+ + + + +	1/800	—

Le 27 janvier 1933 :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + +	1/400	—
1/100	+ + + + +	1/500	—
1/200	+ + + + +	1/600	—
1/300	+ + + + +		

Le 4 mars, trois semaines environ après la fin de la deuxième série d'injections :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	—	1/300	—
1/100	—	1/400	—
1/200	—	1/500	—

Le 18 mars :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1 / 50	+ + — — —	1 / 300	—
1 / 100	—	1 / 400	—
1 / 200	—	1 / 500	—

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Ils sont littéralement criblés de granulations blanches, en général de petite taille ; certaines, toutefois, sont très étendues et confluentes. L'hypertrophie des poumons est considérable.

Reins : Hypertrophiés, ils présentent de très nombreuses granulations blanches, d'un diamètre variant de 1 à 5 mm.

Rate : Aspect normal.

Lapin N° 5

Tuberculisé le 2 décembre 1932 ; sacrifié le 13 mai 1933.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 020 ; poids final : 1 kg. 990 ; perte de poids : 30 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Le 6 janvier 1933 :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1 / 50	+ + + + +	1 / 100	+ + + + —
1 / 100	+ + + + +	1 / 600	+ + + — —
1 / 200	+ + + + +	1 / 750	+ + — — —
1 / 300	+ + + + +	1 / 800	—

Le 20 janvier 1933 :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1 / 50	+ + + + +	1 / 300	+ — — — —
1 / 100	+ + + + +	1 / 400	+ — — — —
1 / 200	+ + + — —	1 / 500	—

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Faiblement hypertrophiés, parsemés de granulations blanches et présentant un certain nombre de grandes plages caséifiées. Au sommet du lobe supérieur droit, une grande plage grisâtre, d'aspect hépatisé. Les ganglions trachéo-bronchiques sont très développés.

Reins : Lésions rares et de petite taille.

Rate : Hypertrophiée, sans lésions.

SÉRIE B₃.

1^o Inoculation.

Le 7 mars 1933, nous procédons à l'inoculation virulente des lapins N^o 1, N^o 2, N^o 3 ; ces animaux reçoivent par la voie veineuse, comme ceux des séries précédentes, 100.000 bacilles bovins virulents (souche VALLÉE).

2^o Traitement curatif.

Le lapin N^o 1 étant conservé comme témoin, seuls les lapins N^o 2 et N^o 3 sont soumis à un traitement curatif par les bacilles tués. Ils sont traités cette fois par le vaccin à base de bacilles dégraissés par l'acétone et l'éther, puis iodés et formolés. Les injections sont effectuées tous les cinq jours à doses massives :

Le 7 mars : 2 milliards et demi de bacilles.

Le 12 mars : 5 milliards de bacilles.

Le 17 mars : 8 milliards de bacilles.

Soit au total 15 milliards et demi de bacilles.

3^o Résultats de l'expérimentation.

Le lapin témoin N^o 1 et le lapin traité N^o 3 meurent prématurément d'affection intercurrente. Seule l'autopsie du lapin N^o 2, mort au bout de trois mois et dix jours de vie utile, peut nous fournir quelques indications sur la valeur du traitement.

Lapin N^o 3

Tuberculisé le 7 mars 1933 ; mort le 28 avril, après un mois et vingt jours de vie utile.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 540 ; poids final : 2 kg. 570.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Le 7 avril :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + +	1/500	+ + + — —
1/100	+ + + + +	1/600	—
1/350	+ + + + +	1/700	—
1/400	+ + + + —		

Le 28 avril :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + +	1/300	—
1/100	+ + + + —	1/400	—
1/200	+ + + — —	1/500	—

Lapin N° 2

Tuberculisé le 7 mars ; mort le 18 juin 1933.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 530 ; poids final et minimum : 1 kg. 680 ; perte de poids : 850 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION. — Le 7 avril :

<i>Dilutions du sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + +	1/500	+ + + + —
1/100	+ + + + +	1/600	+ — — — —
1/350	+ + + + +	1/700	—
1/400	+ + + + —		

Le 28 avril :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	+ + + + +	1/300	—
1/100	+ + + + —	1/400	—
1/200	+ — — — —	1/500	—

RÉACTION DE DÉVIATION DU COMPLÈMENT

Le 7 avril :

RÉACTION			
	Alexine au 1/15	Résultat en présence d'antigène méthylique	Résultat en présence d'antigène microbien
1)	0 cc. 1	H ^o	H ^o
2)	0 cc. 2	Hp	Hp
3)	0 cc. 3	Hp	Hp
4)	0 cc. 4	Hp	H ^t
5)	0 cc. 5	Hp	H ^t
6)	0 cc. 6	H ^t	H ^t
7)	0 cc. 7	H ^t	H ^t
8)	0 cc. 8	H ^t	H ^t

TÉMOINS			
	Alexine au 1/15	Témoin sérum	Témoin antigène (émulsion bacillaire)
1)	0 cc. 1	H ^o	H ^o
2)	0 cc. 2	Hp	Hp
3)	0 cc. 3	H ^t	H ^t
4)	0 cc. 4	H ^t	H ^t

La réaction est faiblement positive avec l'antigène microbien (une dose minima active d'alexine déviée) ; en présence d'antigène méthylique, il y a trois doses déviées.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Considérablement hypertrophiés, criblés de lésions généralement petites. Le lobe inférieur droit est beaucoup moins envahi que le reste du poumon ; le lobe inférieur gauche présente une grande plage hémorragique.

Reins : Aspect normal.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX LAPINS
DES SÉRIES B1, B2 ET B3.

En résumé, les résultats fournis par les animaux de ces diverses séries sont des plus défavorables. Les bacilles tuberculeux tués, même dégraissés par l'acétone et l'éther, se montrent toxiques, aux doses très élevées employées, chez l'animal tuberculisé, surtout si les injections sont très rapprochées.

Les agglutinines et les sensibilisatrices qui apparaissent dans le sang circulant peuvent atteindre un taux élevé qui s'abaisse par la suite assez rapidement.

Mais les effets néfastes de la vaccination curative à hautes doses se traduisent par une chute rapide du poids des animaux traités, par une hypertrophie pulmonaire intense, et enfin par la multiplication considérable des lésions qui évoluent vers la caséification.

Deux hypothèses peuvent être envisagées pour expliquer ces phénomènes : ou bien il y a blocage de l'appareil phagocytaire et, par suite, une diminution des moyens de défense de l'organisme ; ou bien l'introduction de fortes quantités de microbes crée-t-elle un apport d'endotuberculine toxique, des plus néfastes pour l'organisme.

Peut-être s'agit-il encore de toute autre cause difficile à saisir dans l'état actuel de nos connaissances en immunologie ; nous nous garderons de toute interprétation hâtive.

CHAPITRE VI

ESSAIS DE VACCINATION PRÉVENTIVE ET CURATIVE CHEZ LE COBAYE

Nos essais de vaccination chez le cobaye ont été effectués, comme chez le lapin, soit à titre préventif, soit à titre curatif. Nous exposerons successivement, dans ce chapitre, les résultats obtenus dans l'un et l'autre cas.

I. — Essais de vaccination préventive.

SÉRIE A1.

Vaccination préventive

Notre expérimentation a porté sur une seule série d'animaux, comprenant les cobayes N° 2, N° 3, N° 4, N° 5, N° 6, N° 7 et N° 8, qui ont été traités, par voie sous-cutanée, avec des bacilles tuberculeux formolés à l'aide d'une solution sulfitée de trioxyméthylène.

Les injections ont été effectuées tous les sept jours, aux doses suivantes :

Le 13 octobre 1931 : 1/2 cc. de vaccin (250 millions de bacilles)
 20 octobre — : 1 cc. — — (500 — — —)
 27 octobre — : 2 cc. — — (1 milliard — —)
 4 novembre : 1 cc. — — (500 millions — —)

Soit au total 4 cm³ 5 d'émulsion, renfermant 2 milliards et demi de bacilles, en 21 jours.

Les injections étaient pratiquées sous la peau de la cuisse, alternativement à droite et à gauche. Nous consignons dans les tableaux qui suivent les variations du poids et les réactions locales déterminées, chez les cobayes de la série A1, par les injections successives de bacilles tués. L'hypertrophie des ganglions inguinaux y est exprimée par les termes de comparaison communément employés à cet effet (grain de millet, grain de chanvre, pois).

COBAYES DE LA SÉRIE A1

Variations du poids au cours de la période de vaccination

COBAYES		N° 2	N° 3	N° 4	N° 5	N° 6	N° 7	N° 8
<i>Période de traitement</i>	13 octobre 1931	450 gr.	645 gr.	745 gr.	530 gr.	485 gr.	500 gr.	295
	29 octobre	360 gr.	620 gr.	615 gr.	525 gr.	480 gr.	425 gr.	315
	4 novembre	390 gr.	650 gr.	660 gr.	550 gr.	500 gr.	460 gr.	350
<i>Période de résorption</i>	13 novembre	400 gr.	645 gr.	670 gr.	590 gr.	485 gr.	455 gr.	375
	23 novembre	370 gr.	610 gr.	600 gr.	560 gr.	480 gr.	440 gr.	360
	1 ^{er} décembre	410 gr.	630 gr.	630 gr.	580 gr.	500 gr.	470 gr.	400
	7 décembre	370 gr.	640 gr.	620 gr.	590 gr.	500 gr.	440 gr.	390
	14 décembre	340 gr.	610 gr.	660 gr.	520 gr.	460 gr.	420 gr.	390
Perte de poids		110 gr.	35 gr.	85 gr.	10 gr.	25 gr.	80 gr.	augmenté de p 95

Cobayes	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5	N° 6	N° 7	N° 8
4 nov. 1931	pas de réaction à droite. grain de millet à gauche.	gr. de millet et fistule à dr. pas de réaction à gauche.	grain de millet à droite. grain de millet à gauche.	gr. de millet à droite. gr. de millet à gauche.	pas de réaction à droite. grain de millet à gauche.	pas de réaction à droite. grain de millet à gauche.	grain de millet à droite. grain de millet à gauche.
13 novembre	grain de millet à droite. grain de chanvre et fistule à gauche.	un demi-pois et fistule à dr. pas de réaction à gauche.	gr. de millet et fistule à dr. gr. de chanvre à gauche.	gr. de chanvre à droite. gr. de chanvre à gauche.	gr. de millet à droite, fistule. gr. de chanvre à gauche.	gr. de millet et fistule à dr. gros grain de chanvre à g.	gr. de chanvre et gr. de millet à droite. gr. de millet et fistule à g.
23 novembre	grain de chanvre à droite. grain de chanvre à gauche (fistule cicatrisée).	petit pois à dr. (fistule cicatrisée). gr. de millet et fistule à g.	gr. de chanvre à droite (fistule cicatrisée). gr. de chanvre à gauche.	<i>idem.</i>	gr. de chanvre à droite (fistule cicatrisée). gr. de chanvre à gauche.	deux grains de millet à dr. (fistule cicatrisée). gr. de chanvre à gauche.	gros grain de chanvre et gr. de millet à dr. gr. de chanvre à gauche.
1 ^{er} décembre	grain de chanvre à dr. grain de chanvre à gauche	petit pois à dr. gros grain de chanvre à g.	gr. de chanvre à droite. petit pois à g.	<i>idem.</i>	petit pois à dr. petit pois à g.	deux grains de chanvre accollés à droite. gr. de chanvre à gauche.	petit pois et gr. de chanvre à droite. petit pois à g. (fistule cicatrisée).
7 décembre	petit pois à dr. petit pois à gauche.	pois à droite. gros grain de chanvre à g.	gr. de chanvre à droite. petit pois à g.	gros grain de chanvre à dr. petit pois à g.	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>
14 décembre	petit pois à dr. petit pois à gauche.	pois à droite. gros grain de chanvre à g. (fistule cicatrisée).	gr. de chanvre à droite. petit pois à g.	<i>idem.</i>	gros grain de chanvre à dr. petit pois à g.	<i>idem.</i>	petit pois et gr. de chanvre à droite. gr. de chanvre à gauche.

En résumé, au cours de la période de vaccination et de résorption microbienne, le poids des animaux en expérience a diminué de manière sensible. Avant la tuberculisation, exception faite pour le *cobaye* N° 8, nous constatons un état d'amaigrissement particulièrement notable chez les *cobayes* N° 2, N° 4, N° 7 (de 80 à 110 gr.).

Nous soulignerons par la suite que ces derniers n'ont présenté qu'un faible degré de résistance vis-à-vis des bacilles tuberculeux virulents, la mort étant survenue dans un délai rapide.

Au point de vue des réactions locales, conformément à ce que nous avons déjà indiqué au chapitre III, l'injection des bacilles morts, à la dose de 2 milliards et demi de bacilles en 21 jours, a provoqué le plus souvent une hypertrophie ganglionnaire au niveau de l'aîne et l'apparition d'abcès caséeux aboutissant à la formation de fistules dans la région inoculée.

Au moment de la tuberculisation, toutefois, le 18 décembre 1931, les abcès locaux étaient parfaitement cicatrisés ; l'hypertrophie ganglionnaire, quoiqu'en voie de régression, était dans certains cas encore nettement perceptible à la palpation.

Tuberculisation.

Le 18 décembre 1931, un mois et demi environ après l'arrêt des injections, nous procédons simultanément à la tuberculisation des *cobayes* N° 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, et de deux cobayes neufs jouant le rôle de témoins tuberculeux, les *cobayes* N°s 4' et 8'.

Ces animaux sont inoculés par voie sous-cutanée au niveau de la cuisse avec 50.000 bacilles tuberculeux du type humain (souche RATTI de l'Institut PASTEUR).

Nous consignons successivement ci-dessous les résultats de l'expérimentation chez les cobayes tuberculeux témoins, chez les cobayes tuberculeux ayant été préalablement soumis à un traitement préventif, enfin chez un cobaye tuberculeux (*cobaye* N° 8) ayant subi, postérieurement au traitement préventif et à la tuberculisation, une série d'injections à titre curatif.

1° *Cobayes tuberculeux témoins* N^{os} 4' et 8'. — Inoculés à la cuisse droite le 18 décembre 1931. Le *cobaye* N^o 8' meurt le 26 avril 1932 ; le *cobaye* N^o 4' est sacrifié le 19 mai 1932.

VARIATIONS DU POIDS

	Cobaye témoin N ^o 4'	Cobaye témoin N ^o 8'
Poids initial	560 gr.	520 gr.
Poids final	480 gr.	400 gr.
Perte de poids	80 gr.	120 gr.

ÉVOLUTION DES GANGLIONS INGUINAUX

	Cobaye témoin N ^o 4'	Cobaye témoin N ^o 8'
Le 26 décembre 1931.	1 grain de millet.	1 grain de millet.
8 janvier 1932 ...	1 grain de millet et 1 grain de chanvre.	2 grains de millet et 1 grain de chanvre.
14 janvier	1 grain de chanvre et 1 petit pois.	2 grains de chanvre et 1 petit pois.
29 janvier	1 petit pois et 1 pois chiche.	2 petits pois et 1 gros pois.
11 février	<i>idem</i> , avec fistule et caésum.	<i>idem</i> , avec fistule et caésum.
27 février	<i>idem</i> .	<i>idem</i> , avec fistule en voie de cicatrisation.
5 mars	<i>idem</i> , avec fistule en voie de cicatrisation.	<i>idem</i> .
17 mars	1 gros pois et 1 pois chiche.	<i>idem</i> .
4 avril	<i>idem</i> .	<i>idem</i> .
16 avril	<i>idem</i> .	<i>idem</i> .
22 avril	<i>idem</i> , avec fistule et caésum.	<i>idem</i> .
29 avril		<i>idem</i> .
6 mai		<i>idem</i> .

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE

Cobaye témoin N° 8'

L'autopsie a été pratiquée le 26 avril 1932, après quatre mois de vie utile.

Ganglions inguinaux : A droite, deux ganglions de 3 cm. 3 × 1 cm. et de 1 cm. × 6 mm.

Ganglions lombaires : Très caséeux, mesurant à droite 1 cm. 7 × 7 mm., à gauche 1 cm. × 4 mm.

Rate : Hypertrophiée (4 cm. 5 × 1 cm. 5), elle présente à sa face supérieure huit granulations caséuses dont le diamètre varie de 3 à 5 mm.

Foie : Hypertrophié, avec de nombreuses plages très caséuses. Présence d'un ganglion hépatique de 2 cm. 2 × 1 cm.

Reins : Aspect normal.

Poumons : Lobes pulmonaires peu hypertrophiés. Lésions peu nombreuses, mesurant de 1 à 6 mm. de diamètre. Présence de deux masses ganglionnaires trachéo-bronchiques, mesurant respectivement 2 cm. × 1 cm. et 8 mm. × 4 mm.

Cobaye témoin N° 4'

Autopsie effectuée le 19 mai 1932 (cinq mois de vie utile).

Ganglions inguinaux : Au nombre de trois, mesurant respectivement : 2 cm. × 1 cm., 1 cm. × 6 mm., 7 mm. × 5 mm.

Ganglions lombaires : D'aspect caséeux, volumineux :

1 cm. 8 × 8 mm. pour le ganglion de droite,

1 cm. 4 × 9 mm. pour le ganglion de gauche.

Rate : Hypertrophiée (5 cm. × 1 cm. 5), elle offre de volumineuses lésions non caséifiées, proéminentes, prouvant atteindre 1 cm. × 8 mm.

Foie : Aspect normal.

Reins : Aspect normal. Présence d'un ganglion rétro-rénal de 1 cm. 2 × 7 mm.

Poumons : Faiblement hypertrophiés, avec de rares lésions, petites, grisâtres. Présence d'une masse ganglionnaire trachéo-bronchique de 1 cm. × 8 à 9 mm.

2^o COBAYES TUBERCULEUX AYANT ÉTÉ SOUMIS
A LA VACCINATION PRÉVENTIVE.

A) Cobayes N^{os} 2, 3, 4, 5, 6, 7.

Trois de ces animaux meurent assez rapidement : le *cobaye* N^o 7, 17 jours après la tuberculisation ; les *cobayes* N^o 2 et N^o 4. deux mois environ après la tuberculisation.

Les *cobayes* N^o 3, N^o 5, et N^o 6, par contre, sont morts ou ont été sacrifiés à peu près dans les mêmes délais que les cobayes tuberculeux témoins.

VARIATIONS DU POIDS et ÉVOLUTION DES GÂNGLIONS : Nous avons résumé, dans le tableau suivant, les oscillations du poids et de l'évolution ganglionnaire chez ces animaux.

Variations du poids et évolution des ganglions inguinaux (I)

DATES	Cobaye N° 7 <i>inoculé à droite</i>	Cobaye N° 2 <i>inoculé à gauche</i>	Cobaye N° 4 <i>inoculé à droite</i>	Cobaye N° 5 <i>inoculé à droite.</i>	Cobaye N° 3 <i>inoculé à droite.</i>	Cobaye N° 6 <i>inoculé à gauche.</i>
18 déc. 1931	420 gr. deux gr. de chanvre accolés à droite. un demi-pois à gauche.	340 gr. petit pois à droite. petit pois à gauche.	660 gr. gr. de chanvre à droite petit pois à gauche.	530 gr. gros grain de chanvre à droite. petit pois à gauche.	610 gr. pois à droite. gros grain de chanvre à gauche.	460 gr. gros grain de chanvre à droite. petit pois à gauche.
26 décembre	405 gr. <i>idem.</i>	350 gr. gr. de chanvre à droite petit pois à gauche.	590 gr. gr. de chanvre à droite gr. de chanvre à g.	490 gr. gros grain de chanvre à droite. grain de chanvre à g.	590 gr. pois à droite. grain de chanvre à g.	445 gr. grain de chanvre à dr. petit pois à gauche.
8 janvier 1932	Mort le 4 janv. 1932 perte de poids : 15 gr.	295 gr. petit grain de chanvre à droite pois à gauche	570 gr. <i>idem.</i>	505 gr. <i>idem.</i>	610 gr. <i>idem.</i>	475 gr. <i>idem.</i>
15 janvier		300 gr. <i>idem.</i>	575 gr. petit pois à droite. gr. de millet à gauche.	520 gr. <i>idem.</i>	650 gr. <i>idem.</i>	440 gr. <i>idem.</i>
29 janvier		375 gr. <i>idem.</i>	560 gr. <i>idem.</i>	545 gr. gros grain de chanvre à droite. léger empatement à g.	770 gr. petit pois à droite. léger empatement à g.	555 gr. <i>idem.</i>
11 février		280 gr. rien à droite. pois à gauche.	520 gr. petit pois à droite. rien à gauche	560 gr. <i>idem.</i>	700 gr. <i>idem.</i>	520 gr. <i>idem.</i>
27 février		Mort le 24 févr. 1932. perte de poids : 60 gr.	Mort le 24 févr. 1932. perte de poids : 140 gr.	460 gr. <i>idem.</i>	590 gr. <i>idem.</i>	500 gr. léger empatement à droite. petit pois et fistule à g.

				à droite, rien à gauche.	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>
4 avril				Mort le 24 mars 1932. perte de poids : 30 gr.	660 gr. <i>idem.</i>	495 gr. <i>idem.</i>
16 avril					780 gr. petit pois à droite, léger empatement à gauche.	570 gr. <i>idem</i> pour le volume des ganglions, fistule cicatrisée.
22 avril					760 gr. <i>idem.</i>	640 gr. <i>idem.</i>
29 avril					Sacrifié le 27 avril 1932 augmentation de poids : 150 gr.	635 gr. <i>idem.</i>
6 mai						660 gr. <i>idem.</i>
13 mai						655 gr. <i>idem.</i>
						Sacrifié le 19 mai 1932. augmentation de poids : 205 gr.

(1) Nous rappelons que, lors de l'inoculation virulente (18 décembre 1931), les animaux vaccinés présentaient une légère hypertrophie consécutive à la vaccination par les bacilles morts.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE

Cobaye N° 7

Tuberculisé le 18 décembre 1931. Mort prématurément le 4 janvier 1932.

Ganglions inguinaux : Du côté droit, deux petits ganglions de 3 mm. $\times$ 2 mm. A gauche, un ganglion de 3 mm. $\times$ 4 mm.

Les différents viscères (poumons, reins, foie, rate) offrent un aspect normal.

Cobaye N° 2

Tuberculisé le 18 décembre 1931 ; mort le 24 février 1932, après deux mois environ de vie utile.

Ganglion inguinal gauche de 1 cm. $\times$ 6 mm.

Ganglion lombaire gauche de 4 mm. $\times$ 3 mm.

Poumons, Rate, Foie : Aspect normal.

Cobaye N° 4

Tuberculisé le 18 décembre 1931 ; mort également le 24 février 1932.

Ganglion inguinal droit, translucide, de 6 mm. de diamètre.

Ganglions lombaires non développés.

Rate : Non hypertrophiée, présentant une seule granulation de très petite taille.

Poumons, Foie : Aspect normal.

Cobaye N° 5

Tuberculisé le 18 décembre 1931 ; mort le 24 mars 1932, après trois mois de vie utile.

Ganglion inguinal droit : Peu volumineux (6 mm. $\times$ 4 mm.), il est très adhérent aux aponévroses musculaires et comme enkysté.

Ganglion lombaire droit : De consistance dure et de petite taille (5 mm. $\times$ 4 mm.).

Rate : D'aspect normal, présentant une petite tache plus ou moins sclérosée.

Foie : Friable mais sans lésions. La vésicule biliaire est fortement dilatée.

Reins : Néphritiques, surtout le rein droit.

Poumons : Non hypertrophiés et exempts de granulations.

Cobaye N° 3

Tuberculisé le 18 décembre 1931 ; sacrifié le 27 avril 1932, le lendemain de la mort du cobaye témoin N° 8'.

Ganglion inguinal droit : Enkysté dans les aponévroses musculaires, il présente un aspect blanc crémeux et mesure 8 mm. $\times$ 5 mm.

Ganglions lombaires : A droite, un ganglion très caséeux, de 1 cm. 5 $\times$ 6 mm. A gauche, deux petits ganglions de 4 mm. $\times$ 3 mm.

Rate : Faiblement hypertrophiée, elle mesure 3 cm. 7 $\times$ 1 cm. et présente un aspect légèrement granuleux, sans lésions visibles. Une seule granulation blanche de 2 mm. de diamètre environ.

Foie : Aspect normal.

Poumons : Semés de fines ponctuations grisâtres, pas de lésions caséifiées. Présence d'un ganglion trachéo-bronchique de 6 mm. $\times$ 4 mm.

Cobaye N° 6

Tuberculisé le 18 décembre 1931 ; sacrifié le 19 mai 1932, parallèlement au cobaye témoin N° 4'.

Ganglion inguinal gauche : enkysté dans les aponévroses et mesurant de 7 à 8 mm. de diamètre.

Ganglions lombaires : A droite, un petit ganglion (6 mm. $\times$ 4 mm.) ; à gauche, un ganglion plus volumineux (9 mm. $\times$ 6 mm.).

Rate : Hypertrophiée (4 cm. $\times$ 1 cm. 5), elle présente trois plages caséeuses dont l'une est très étendue (2 cm. $\times$ 1 cm.).

Foie : Légèrement hypertrophié. Quelques granulations blanches et une grande plage caséeuse de 1 cm. 5 de diamètre.

Poumons : Faiblement hypertrophiés, avec rares granulations grises. Présence de deux ganglions trachéo-bronchiques de 6 mm. de diamètre environ.

B) Cobaye N° 8 ayant été soumis à la vaccination préventive suivie d'un traitement curatif.

Tuberculisé le 18 décembre 1931 (inoculation à gauche) ; mort le 13 mai 1932.

Le 15 avril 1932, soit quatre mois après la tuberculisation, nous commençons une nouvelle série d'injections ; l'animal reçoit successivement :

15 avril 1932 :	1/4 cc. vaccin formolé N° 1 (125 millions de bacilles)				
22 avril — :	1/2 cc. — — — — —	(250	—	—	)
29 avril — :	1 cc. — — — — —	(500	—	—	)
6 mai — :	1 cc. 5 — — — — —	(750	—	—	)

Soit au total 3 cm³. 25 de vaccin renfermant 1 milliard 625 millions de bacilles en 21 jours.

Afin de ne pas influencer directement les réactions ganglionnaires inguinales, nous avons effectué les injections non plus à la cuisse, mais sur le dos, alternativement à droite et à gauche, soit au niveau des épaules, soit au niveau des lombes.

VARIATIONS DU POIDS :

Le 18 décembre 1931 :	390 gr.
26 décembre — :	380 gr.
8 janvier 1932 :	430 gr.
15 janvier — :	445 gr.
29 janvier — :	460 gr.
11 février — :	480 gr.
27 février — :	440 gr.
5 mars — :	380 gr. (femelle gravide ayant mis bas)
17 mars — :	420 gr.
4 avril — :	445 gr.
période de vaccination curative { 16 avril — :	515 gr.
22 avril — :	550 gr.
29 avril — :	565 gr.
6 mai — :	610 gr.
Augmentation de poids	220 gr.

ÉVOLUTION DES GANGLIONS INGUINAUX :

Le 18 décembre 1931 (inoculation du bacille virulent à la cuisse gauche)	{ Un petit pois et un grain de chanvre à droite. Un grain de chanvre à gauche.
26 décembre 1931	<i>Idem.</i>
8 janvier 1932	{ Léger empâtement et grain de chanvre à droite. Grain de chanvre à gauche.
15 janvier	<i>Idem.</i>
29 janvier	<i>Idem.</i>
11 février	<i>Idem.</i>
27 février	<i>Idem.</i>
5 mars	<i>Idem.</i>
17 mars	<i>Idem.</i>
4 avril	<i>Idem.</i>

16 avril (début de la vaccination curative).	Léger empâtement à droite et grain de chanvre à gauche.
22 avril	<i>Idem.</i>
29 avril	<i>Idem.</i>
6 mai	<i>Idem.</i>

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Ganglion inguinal gauche* : D'aspect sclérosé, enkysté dans les aponévroses musculaires, il mesure 4 mm. de diamètre.

Ganglion lombaire gauche : D'aspect caséeux, il mesure 1 cm. 5 × 7 mm.

Rate : Hypertrophiée (4 cm. de long sur 1 cm. à 1 cm. 5 de large), elle présente deux petites granulations blanches de 2 mm. de diamètre et une grande plage caséeuse de 1 cm. 5 × 6 à 7 mm.

Foie : Aspect granuleux. Ganglion hépatique volumineux de 1 cm. 3 de diamètre.

Poumons : Non hypertrophiés, d'aspect hémorragique, présentant une seule granulation blanche de 3 mm. de diamètre.

Il existe de nombreuses adhérences autour de l'intestin et du foie, avec grand épanchement de liquide d'ascite. L'animal a probablement succombé à une intoxication d'origine bacillaire. Le mésentère, toutefois, ne présentait pas de granulations bacillaires.

Examen histologique des coupes.

L'examen histologique a porté tout spécialement sur les réactions ganglionnaires des animaux témoins et des animaux traités.

Les ganglions inguinaux et lombaires, chez les cobayes témoins, présentent une caséification centrale étendue. Il y a peu ou pas de sclérose sur les bords.

Chez les cobayes ayant été soumis à la vaccination, l'examen des ganglions révèle un état de résistance marqué à l'infection tuberculeuse.

Chez le cobaye N° 2 (deux mois de vie utile), on constate une réaction macrophagique intense (FIG. 5). Chez le cobaye N° 3 (quatre mois de vie utile), le ganglion inguinal présente une réaction scléreuse intense, avec apport de nombreuses cel-

lules lymphoïdes (Fig. 6 et 7). Chez ce même animal, le ganglion lombaire est très sclérosé et paraît formé d'un certain nombre

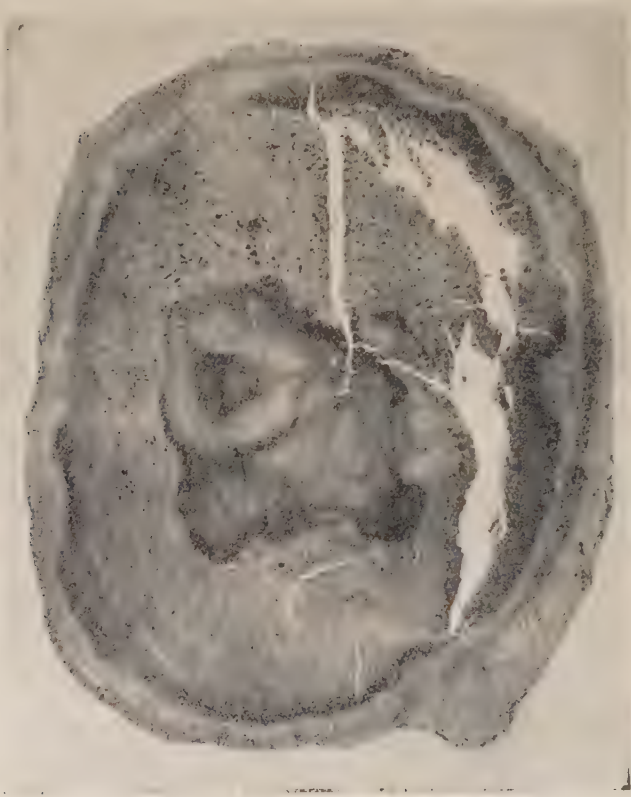


FIG. 5. — **Cobaye n° 2** (vacciné préventivement).

Ganglion inguinal présentant au centre un début de caséification limité extérieurement par une zone de tissu fibreux en voie de formation ; présence de nombreuses cellules macrophages.

de lobes entourés de fibroblastes. Il n'y a pas de bacilles de Koch acido-résistants (Fig. 8).

Réaction macrophagique et surtout réaction scléreuse se



FIG. 6. — **Cobaye n° 3** (vacciné préventivement).
Vue d'ensemble du *ganglion inguinal* dont la caséification
a avorté et qui montre une épaisse coque sclérosée.



FIG. 7. — . **Cobaye n° 3** (vacciné préventivement).
Zone périphérique du ganglion précédent montrant les
nombreuses cellules lymphoïdes centrales non altérées,
limitées extérieurement par une coque fibreuse.

retrouvent, dans l'ensemble, chez presque tous les cobayes qui avaient été soumis à la vaccination préventive, ce qui dénote la résistance de l'organisme à l'infection bacillaire expérimentale.

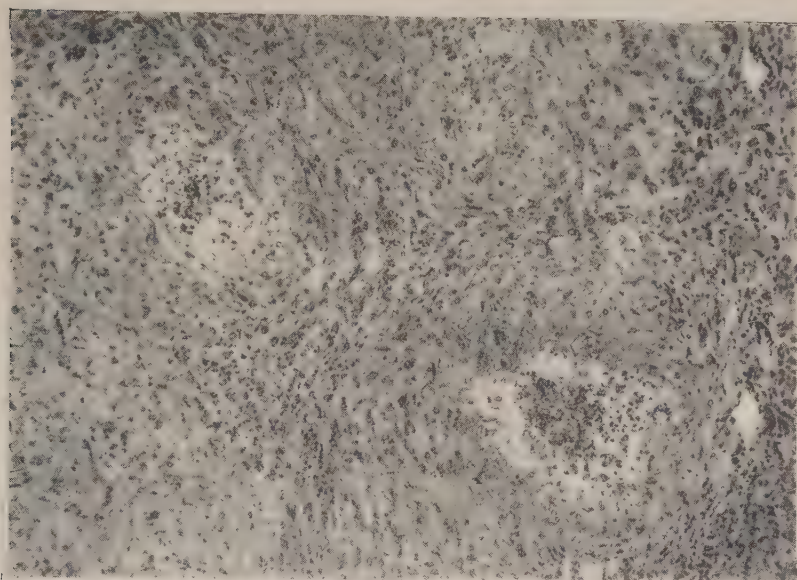


FIG. 8. — Cobaye n° 3 (vacciné préventivement).

Ganglion lombaire montrant des points de caséification délimités extérieurement par une zone de tissu fibreux riche en fibroblastes.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX COBAYES DE LA SÉRIE A¹

En résumé, alors que nous assistons, chez les animaux témoins, à l'évolution classique de la tuberculose expérimentale du cobaye, les animaux vaccinés au contraire présentent une évolution très particulière. Chez les cobayes témoins, un mois après la tuberculisaison, l'hypertrophie du ganglion inguinal est déjà considérable (ganglion atteignant le volume d'un pois chiche chez le cobaye N° 8'). Au point inoculé, une fistule suppurante

laisse bientôt écouler un caséum épais, riche en bacilles de KOCH acido-résistants.

Dans le même temps, l'examen des cobayes vaccinés — chez lesquels persistait, à droite et à gauche, une très faible hypertrophie ganglionnaire inguinale consécutive à la vaccination — nous révèle les faits suivants : du côté inoculé, il ne se produit aucune modification appréciable dans le volume du ganglion inguinal, ce qui semble indiquer, chez ces animaux, un état de vaccination locale des plus nets ; du côté opposé, nous assistons à la régression progressive de l'hypertrophie ganglionnaire qui résultait de la vaccination.

D'autre part, les animaux vaccinés — à l'exception du cobaye N° 6 — n'ont point présenté de fistule au niveau du point inoculé, après la tuberculisation.

Chez les cobayes témoins, l'évolution de la maladie se traduit par un abaissement sensible du poids (120 gr. pour le cobaye N° 4', 80 gr. pour le cobaye N° 8') et, à l'autopsie, par la présence de lésions tuberculeuses généralisées.

Le système ganglionnaire est considérablement hypertrophié (ganglions inguinaux et lombaires très développés ; volumineuses masses ganglionnaires trachéo-bronchiques, hépatiques et rétro-rénales). La rate et le foie sont le siège d'une hypertrophie intense et présentent de nombreuses granulations caséuses souvent très étendues ; les poumons, par contre, n'offrent que de petites lésions grisâtres, rarement en voie de caséification.

Chez les animaux vaccinés, la courbe des poids ne s'est montrée défavorable que pour les *cobayes* N° 2, N° 4, N° 7, ceux-là mêmes qui avaient déjà subi un amaigrissement considérable au cours de la période de vaccination. Ces animaux, qui se trouvaient probablement dans un état déficient au moment de l'inoculation virulente, sont morts peu de temps après, dans un délai variant de quinze jours à deux mois. A l'autopsie, ils ne présentent pas de lésions viscérales ; le ganglion inguinal est très peu développé, ce qui est une indication en faveur du traitement préventif.

Chez les autres cobayes vaccinés préventivement, la courbe des poids est plus favorable (augmentation variant de 150 à 220 gr.).

A l'autopsie, le ganglion inguinal, toujours de dimensions réduites, est adhérent aux aponévroses musculaires, et comme enkysté. Les lésions viscérales sont en général rares et peu étendues. Par contre, dans certains cas, le ganglion lombaire est assez développé et présente un aspect caséeux.

Enfin, dans le cas du *cobaye* N° 8, vacciné préventivement et soumis à un essai de traitement curatif, nous avons constaté une évolution rapidement mortelle, avec réaction péri-intestinale et épanchement ascitique. Toutefois, le poids de l'animal avait constamment augmenté, les lésions ulcéro-caséuses viscérales étaient très peu développées à l'autopsie, et cela malgré l'état de gravidité du sujet.

Ces faits nous ont paru intéressants car l'état gravis accélère, en général, l'évolution de la maladie.

En résumé, alors que les lésions observées chez les animaux témoins sont le signe d'une tuberculose évolutive grave, les animaux vaccinés préventivement présentent, dans l'ensemble, un état de résistance manifeste à l'infection tuberculeuse.

L'introduction, dans l'organisme, de bacilles morts à fortes doses (1 milliard 625 millions de bacilles en 21 jours), postérieurement à la tuberculisation, apparaît au contraire comme des plus néfastes chez le cobaye ; ceci est en parfaite concordance avec les résultats obtenus chez le lapin.

II. — Essais de vaccination curative chez le cobaye.

Les tentatives de vaccination effectuées à titre curatif chez le cobaye ont porté sur deux séries d'animaux. La première — que nous dénommons série B¹ — avait été inoculée le 18 décembre 1931, parallèlement aux cobayes témoins N^o 4' et N^o 8' (1), avec 50.000 bacilles tuberculeux très virulents (souche RATTI).

SÉRIE B¹

1^o Traitement curatif.

Les cobayes N^o 1, N^o 5, N^o 6, N^o 7 ont été traités successivement par les bacilles simplement formolés et par les bacilles iodés formolés.

Les injections, effectuées sous la peau du dos alternativement à droite et à gauche, ont été commencées trois jours après l'inoculation virulente et poursuivies aux dates suivantes :

21 déc. 1931 :	1/4 cc.	vaccin formolé N ^o 2	(125 mill. de b.)
26 déc. — :	1/2 cc.	— — — dilué de moitié	(125 — —)
31 déc. — :	3/4 cc.	— — — — —	(187 m. 500.000)
7 janv. 32 :	1 cc.	— — — — —	(250 mil. de b.)
14 janv. — :	1 cc. 5	— — — — —	(375 — —)

Le traitement est repris le 21 janvier 1932 avec le vaccin iodé formolé :

21 janvier :	2 cc.	vaccin iodé formolé dilué de moitié	(500 millions de b.)
28 janvier :	2 cc.	— — — — —	(500 — —)
4 février :	2 cc.	— — — — —	(500 — —)

(1) Cobayes témoins de la série précédente.

La quantité totale de bacilles injectés est donc égale à 2 milliards 562 millions 500.000, dont 1 milliard 500.000 de bacilles iodés formolés.

Enfin, une nouvelle série d'injections est effectuée, chez le *cobaye* N° 1 seulement, du 25 mars au 29 avril 1932 ; l'animal reçoit :

25 mars :	1/2 cc.	vaccin iodé dilué de moitié	(125 millions de bacilles)
31 mars :	1 cc.	— — — —	(250 — — — —)
7 avril :	1 cc. 5	— — — —	(375 — — — —)
14 avril :	2 cc.	— — — —	(500 — — — —)
22 avril :	3 cc.	— — — —	(750 — — — —)
29 avril :	4 cc.	— — — —	(1 milliard — —)

Ce qui porte à 5 milliards 562 millions 500.000 bacilles la quantité totale de bacilles morts injectés au *cobaye* N° 1.

2° Résultats de l'expérimentation.

A l'exception du *cobaye* N° 1, les animaux de la série B¹ meurent assez rapidement, deux mois environ après l'inoculation virulente.

Les variations du poids et le développement des ganglions inguinaux ont été groupés dans le tableau suivant.

Cobayes de la série B1

VARIATIONS DU POIDS ET ÉVOLUTION DES GANGLIONS INGUINAUX

	Cobaye N° 5	Cobaye N° 6	Cobaye N° 7	* Cobaye N° 1
18 déc. 1931	330 gr.	315 gr.	440 gr.	510 gr.
26 décembre	295 gr. grain de millet.	280 gr. grain de millet.	400 gr. grain de millet.	460 gr. grain de millet.
8 janv. 1932	335 gr. gros grain de chanvre.	285 gr. 1 grain de millet et 1 grain de chanvre.	410 gr. 2 grains de millet et 1 grain de chanvre.	440 gr. 1 grain de millet et 1 grain de chanvre.
14 janvier	335 gr. petit pois.	310 gr. <i>idem.</i>	455 gr. 2 grains de chanvre et 1 petit pois.	425 gr. 2 grains de chanvre.
29 janvier	310 gr. <i>idem.</i>	340 gr. 2 grains de chanvre.	455 gr. 2 pois et 1 grain de chanvre.	460 gr. <i>idem.</i>
11 février	275 gr. <i>idem.</i>	320 gr. <i>idem.</i>	400 gr. 2 gros pois et 1 gros grain de chanvre.	450 gr. <i>idem.</i>
27 février	Mort le 16 février perte de poids : 55 gr.	Mort le 24 février pas de perte de poids.	Mort le 27 février perte de poids : 40 gr.	450 gr. <i>idem.</i>

17 mars					430 gr. <i>idem.</i>
4 avril					380 gr. 2 grains de chanvre et turgescence crurale de la grosseur d'un pois.
16 avril					390 gr. <i>idem.</i>
22 avril					420 gr. <i>idem.</i>
29 avril					350 gr. 2 grains de chanvre et fistule crurale.
6 mai					390 gr. <i>idem.</i>
13 mai					400 gr. <i>idem.</i>
					Mort le 19 mai 1932. perte de poids : 110 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE

Cobaye N° 5

Inoculé le 18 décembre 1931 ; mort le 16 février 1932, après deux mois de vie utile.

Ganglions inguinaux : A droite, un ganglion bien individualisé de 1 cm. $\times$ 6 mm., d'aspect caséeux, voisinant avec une masse ganglionnaire empâtée.

Ganglions lombaires : A droite et à gauche, présence d'un ganglion d'aspect translucide, mesurant 2 mm. $\times$ 4 mm. et 1 mm. 5 $\times$ 2 mm. 5.

Rate, Foie : Aspect normal.

Poumons : D'aspect hémorragique mais sans granulations. Présence de deux petits ganglions trachéo-bronchiques de 2 mm. $\times$ 4 mm.

Cobaye N° 6

Inoculé le 18 décembre 1931 ; mort le 24 février 1932.

Ganglions inguinaux : Peu développés, au nombre de deux, ils mesurent 6 mm. $\times$ 2 mm. 5 et 5 mm. $\times$ 3 mm.

Ganglions lombaires : Plus développés que les ganglions inguinaux, ils mesurent 7 mm. $\times$ 5 mm. à droite et 6 mm. $\times$ 4 mm. à gauche.

Rate : Faiblement hypertrophiée, elle présente deux granulations de très petite taille.

Foie : Aspect normal.

Poumons : Aspect normal. Présence de trois ganglions trachéo-bronchiques assez développés.

Cobaye N° 7

Inoculé le 18 décembre 1931 ; mort le 27 février 1932.

Ganglions inguinaux : A droite, deux ganglions très volumineux, de 1 cm. 4 $\times$ 6 mm. et 1 cm. 1 $\times$ 6 mm. ; un troisième ganglion atteignant seulement 5 mm. $\times$ 4 mm. ; à gauche, un ganglion inguinal de 1 cm. $\times$ 6 mm.

Ganglions lombaires : Bien développés à droite et à gauche (7 mm. $\times$ 4 mm.).

Rate, Foie, Poumons : Aspect normal.

Cobaye N° 1

Inoculé le 18 décembre 1931 ; mort le 19 mai 1932, 20 jours après la fin de la dernière série d'injections qui avait été effectuée du 25 mars au 29 avril.

Ganglions inguinaux : A droite, deux ganglions peu volumineux (7 mm. $\times$ 4 mm. et 4 mm. $\times$ 3 mm.).

Ganglions lombaires : A droite, un ganglion caséux, de 1 cm. 1 $\times$ 7 mm. A gauche, un ganglion de 7 mm. $\times$ 5 mm.

Rate : Hypertrophiée, entourée de tissu fibreux d'aspect blanc marbré ; pas de lésions individualisées.

Foie : D'aspect granuleux et de consistance friable, il présente sur un lobe une grande plage caséuse de 1 cm. 5 $\times$ 1 cm. 1 ; un certain nombre de granulations blanches de 3 à 5 mm. de diamètre sont disséminées sur toute sa surface.

Reins : Aspect normal. Présence d'un ganglion rétro-rénal peu développé.

Poumons : Parsemés de granulations grises et blanches de 2 à 4 mm. de diamètre ; une plage caséuse plus étendue à la pointe du poumon droit. Présence d'un ganglion trachéo-bronchique de 8 mm. de diamètre.

Examen histologique des coupes.

L'examen microscopique des lésions révèle l'existence d'un processus phagocytaire intense. Les nodules tuberculeux pulmonaires présentent un afflux énorme de cellules épithélioïdes, littéralement bourrées de bacilles de KOCH acido-résistants.

Le traitement curatif par les bacilles morts semble avoir favorisé la multiplication et la dissémination bacillaire ; mais la phagocytose est intense et les éléments cellulaires, dans leur ensemble, ne présentent pas de phénomènes de dégénérescence. Il y a peu ou pas de caséification, contrairement à ce qui avait été observé chez les animaux témoins.

La rate présente une réaction macrophagique intense qui doit être considérée comme une réaction de défense de l'organisme vis-à-vis du bacille de KOCH.

SÉRIE B2

1^o Inoculation.

Le 7 février 1933, nous procédons à l'inoculation de huit cobayes neufs qui reçoivent parallèlement 50.000 bacilles tuber-

culeux virulents du type humain (souche RATTI). Ces animaux sont alors répartis en trois groupes :

a) Les *cobayes* N° 7, N° 8, N° 10, jouant le rôle d'animaux témoins ;

b) Les *cobayes* N° 4 et N° 9 qui seront traités ultérieurement par le vaccin éthéré-iodé (bacilles dégraissés par l'éther, puis traités successivement par l'iode et le trioxyméthylène sulfité) ;

c) Les *cobayes* N° 1, N° 3 et N° 11 qui seront traités par le vaccin éthéré-chloroformé-iodé (bacilles dégraissés par l'éther et le chloroforme, puis traités par l'iode et le trioxyméthylène sulfité).

2° Traitement curatif.

Le traitement curatif est commencé dès le lendemain de l'inoculation virulente et poursuivi tous les cinq jours aux doses suivantes :

Le 8 février 1933 : 2 milliards et demi de bacilles.

13 février — : 5 milliards —

18 février — : 8 milliards —

Soit 15 milliards et demi de bacilles en 10 jours.

Les injections sont effectuées sous la peau du dos, alternativement à droite et à gauche.

3° Résultats de l'expérimentation.

a) COBAYES TUBERCULEUX TÉMOINS N° 7, N° 8, N° 10.

Inoculés sous la peau de la cuisse droite le 7 février 1933.

Le cobaye N° 7 meurt le 24 mai 1933 ; le cobaye N° 8, le 29 juin ; enfin le cobaye N° 10 est sacrifié le 5 juillet.

VARIATIONS DU POIDS

	Cobaye N° 7	Cobaye N° 8	Cobaye N° 10
Poids initial	430 gr.	520 gr.	390 gr.
Poids final	270 gr.	335 gr.	390 gr.
Perte de poids	160 gr.	185 gr.	pas perte de poids.

ÉVOLUTION DES GANGLIONS INGUINAUX

	Cobaye N ^o 7	Cobaye N ^o 8	Cobaye N ^o 10
17 février 1933	grain de millet	grain de millet	grain de millet
24 février	1 grain de chanvre et 2 grains de millet	1 petit pois et 2 grains de millet	grain de chanvre
3 mars	1 petit pois et 2 grains de chanvre.	1 pois et 2 grains de chanvre.	grain de chanvre
11 mars	1 pois et 2 grains de chanvre	1 gros pois et 2 grains de chanvre	petit pois
25 mars	1 gros pois et 2 grains de chanvre.	<i>idem.</i>	pois et fistule au point de l'inoculation
7 avril	<i>idem.</i>	<i>idem.</i> , avec fistule au point de l'inoculation	pois (fistule tarie)
25 avril	<i>idem</i> à droite 1 petit pois à gauche.	<i>idem.</i>	<i>idem</i> à droite, grain de chanvre à gauche
12 mai	<i>idem.</i>	<i>idem</i> à droite, grain de chanvre à gauche	1 haricot et gros gan- gion crural à droite ; gr. de chanvre à gauche
24 mai	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>
13 juin		pois chiche et 2 petits pois à droite, petit pois à gauche	<i>idem.</i>
29 juin		<i>idem.</i>	<i>idem.</i>
5 juillet			<i>idem</i>

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE

Cobaye témoin n° 7

Mort après trois mois et demi de vie utile.

Ganglions inguinaux : A droite, une volumineuse masse ganglionnaire de 1 cm. 8 × 1 cm. 3 et deux petits ganglions de 4 mm. environ de diamètre, présentant un aspect hémorragique. A gauche, un ganglion d'aspect translucide (7 mm. × 5 mm.).

Ganglions lombaires : D'aspect hémorragique, mesurant 8 mm. × 6 mm.

Rate : Hypertrophiée, elle présente une quinzaine de granulations blanches, d'un diamètre variant de 1 à 5 mm.

Foie : D'aspect normal, il ne présente qu'une seule lésion sous forme d'une plaque caséifiée. Présence d'un ganglion hépatique de 9 mm. × 6 mm.

Poumons : Faiblement hypertrophiés, ils ne révèlent qu'un petit nombre de granulations blanches, généralement peu étendues. Quelques zones présentent un aspect hémorragique. Présence d'un ganglion trachéo-bronchique de 1 cm. 4 × 1 cm.

Cobaye témoin N° 8

Mort après quatre mois et demi de vie utile.

Ganglions inguinaux : A droite, un ganglion très caséeux de 1 cm. 5 × 1 cm. 2 et deux ganglions plus durs, translucides, de 9 mm. × 5 mm. et 7 mm. × 4 mm.

Ganglions lombaires : Ils mesurent respectivement à droite et à gauche 1 cm. 1 × 6 mm. et 8 mm. × 4 mm.

Rate : Considérablement hypertrophiée, elle est envahie de granulations blanches d'un diamètre n'excédant pas 2 à 3 mm.

Foie : Parsemé de grandes plages caséifiées. Présence de deux ganglions hépatiques volumineux (1 cm. 2 × 9 mm.).

Reins : Aspect normal. Présence d'un ganglion rétro-rénal, de forme allongée, atteignant le volume d'un haricot.

Poumons : Hypertrophiés et parsemés de fines granulations grises ; quelques granulations blanches plus volumineuses. Présence de deux masses ganglionnaires trachéo-bronchiques de 1 cm. de diamètre.

Cobaye témoin N° 10

Sacrifié au cinquième mois de vie utile.

Ganglion inguinal : A droite, un ganglion inguinal de 2 cm. × 8 mm.

Ganglion crural : Volumineux (2 cm. $\times$ 1 cm. 1) et très caséeux.

Ganglions lombaires : 1 cm. 1 $\times$ 6 mm. à droite et 1 cm. $\times$ 5 mm. à gauche.

Rate : Elle atteint un volume considérable (6 cm. $\times$ 2 cm.) et présente de volumineuses lésions caséifiées.

Foie : Quelques plages caséeuses assez étendues. Ganglion hépatique mesurant 1 cm. 6 $\times$ 8 mm.

Reins : Aspect normal, Ganglion rétro-rénal de 1 cm. 2 $\times$ 9 mm.

Poumons : Faiblement hypertrophiés, ils présentent des lésions tuberculeuses assez nombreuses, généralement caséifiées, parfois entourées d'un bourrelet gris. Présence d'un ganglion trachéo-bronchique de 1 cm. $\times$ 8 mm.

b) COBAYES TRAITÉS PAR LE VACCIN ÉTHÉRÉ-IODÉ.

Nous avons condensé sous forme de tableau les oscillations du poids et les réactions ganglionnaires chez ces animaux.

(Voir tableau page 194.)

Cobayes de la série B2
traités par le vaccin éthéré-iodé

VARIATIONS DU POIDS ET ÉVOLUTION DES GANGLIONS INGUINAUX

	Cobaye N° 4	Cobaye N° 9
7 février 1933	520 gr.	550 gr.
17 février	460 gr. 1 grain de chanvre.	475 gr. 2 grains de chanvre.
24 février	440 gr. <i>idem.</i>	450 gr. 1 grain de chanvre et 1 petit pois.
3 mars	460 gr. <i>idem.</i>	445 gr. 1 grain de chanvre et 1 petit pois.
11 mars	480 gr. 1 petit pois	450 gr. 1 gros pois.
25 mars	540 gr. 1 pois et turgescence au point de l'inoculation.	480 gr. 1 gros pois et turgescence au point de l'inoculation.
7 avril	560 gr. 1 pois et fistule au point de l'inoculation.	500 gr. 1 gros pois et fistule au point de l'inoculation.
25 avril	510 gr. 1 pois et fistule en voie de cicatrization.	465 gr. 1 gros pois et fistule cicatrisée.
12 mai	490 gr. 1 pois chiche à droite, 1 gr. de chanvre à gauche.	500 gr. 1 pois chiche et fistule crurale.
26 mai	500 gr. 1 pois chiche à droite, 1 petit pois à gauche.	460 gr. 1 pois chiche et fistule cicatrisée.
13 juin	440 gr. <i>idem.</i>	380 gr. 1 gros pois chiche.
26 juin	380 gr. <i>idem.</i>	340 gr. <i>idem.</i>
	Mort le 3 juillet. perte de poids : 140 gr.	Mort le 27 juin. perte de poids : 210 gr.

RÉSULTATS DES DIVERSES AUTOPSIES

Cobaye N° 4

Mort le 3 juillet 1933, après cinq mois de vie utile.

Ganglions inguinaux : A droite, un volumineux ganglion de 1 cm. 8 × 1 cm. 3, accompagné de deux plus petits (de 8 et 5 mm. de diamètre). A gauche, un petit ganglion de 6 mm. de diamètre.

Ganglions lombaires : Peu volumineux (8 mm. × 5 mm. à droite et 7 mm. × 4 mm. à gauche).

Rate : Hypertrophiée, parsemée de nombreuses petites granulations blanches.

Foie : Lésions assez rares, mais très étendues, constituant de larges plages caséuses. Ganglion hépatique de 9 mm. × 6 mm.

Reins : Aspect normal. Ganglion rétro-rénal de 1 cm. × 8 mm.

Poumons : Faiblement hypertrophiés, ils présentent des lésions peu nombreuses et de faible étendue. Ganglion trachéo-bronchique de 1 cm. 4 × 1 cm. 2.

Cobaye N° 9

Mort le 27 juin 1933, après quatre mois et demi de vie utile.

Ganglions inguinaux : A droite, un ganglion caséux, volumineux, mesurant 2 cm. × 1 cm. 5.

Ganglions lombaires : Non caséifiés, ils mesurent 8 mm. × 7 mm. à droite et 8 mm. × 5 mm. à gauche.

Rate : Sensiblement hypertrophiée, d'aspect granuleux, elle présente un assez grand nombre de granulations blanches, de 1 à 4 mm. de diamètre.

Foie : Lésions peu nombreuses mais envahissantes, en particulier sur un des lobes. Présence de deux ganglions hépatiques assez volumineux.

Reins : Aspect normal. Volumineux ganglions rétro-rénaux.

Poumons : Hypertrophiés, parsemés de plages d'aspect hémorragique. Quelques granulations grises, punctiformes, et granulations blanches atteignant 2 mm. de diamètre. Ganglions trachéo-bronchiques : volumineuses masses de 1 cm. de diamètre environ.

c) COBAYES TRAITÉS PAR LE VACCIN
ÉTHÉRÉ-CHLOROFORMÉ-IODÉ.

VARIATIONS DU POIDS et ÉVOLUTION DES GANGLIONS INGUINAUX. — Voir tableau ci-contre.

RÉSULTATS DES AUTOPSIES

Cobaye N° 3

Mort le 15 mai 1933, après trois mois de vie utile.

Ganglions inguinaux : D'aspect caséifié, mesurant 1 cm. 3×6 mm. et 7 mm. $\times 4$ mm. Au-dessous de la région inguinale, une volumineuse masse crurale caséifiée.

Ganglions lombaires : D'aspect translucide, mesurant à droite 1 cm. 2×6 mm. et à gauche 8 mm. $\times 5$ mm.

Rate : Faiblement hypertrophiée ; granulations généralement de petite taille.

Foie : Granulations blanches peu étendues, d'un diamètre variant de 1 à 3 mm. Deux lésions plus volumineuses, d'aspect granuleux.

Reins : Aspect normal.

Poumons : Non hypertrophiés, sans lésions visibles. Etat hémorragique des plus intenses.

Cobaye N° 11

Tué le 5 juillet 1933.

Ganglions inguinaux : A droite, un ganglion volumineux, atteignant 2 cm. 1×1 cm. 1 ; deux autres ganglions de plus petite taille.

Ganglions lombaires : A droite, un ganglion de 1 cm. 3×6 mm. ; à gauche, de 9 mm. $\times 5$ mm.

Rate : Hypertrophiée, elle atteint des dimensions considérables (4 cm. 5 de long sur 2 cm. de large) ; à sa surface, les lésions sont nombreuses et parfois volumineuses.

Foie : Lésions assez rares, mais d'aspect caséifié. Présence d'un volumineux ganglion hépatique.

Reins : Aspect normal. Ganglion rétro-rénal, de forme allongée, peu développé.

Poumons : Faiblement hypertrophiés et parsemés de granulations blanches de 1 à 3 mm. de diamètre. Présence d'un ganglion trachéo-bronchique de 1 cm. $\times 5$ mm.

Cobayes de l'assérie B2
traités par le vaccin éthéré-chloroformé-iodé

VARIATIONS DU POIDS ET ÉVOLUTION DES GANGLIONS INGUINAUX

	Cobaye N° 3	Cobaye N° 11	Cobaye N° 1
7 février 1933	450 gr.	590 gr.	360 gr.
17 février	330 gr. 1 grain de millet	530 gr. 1 grain de chanvre	300 gr. 1 grain de millet.
24 février	300 gr. 1 grain de chanvre	530 gr. 1 gros gr. de chanvre	280 gr. <i>idem.</i>
3 mars	310 gr. <i>idem.</i>	525 gr. 1 petit pois	310 gr. 1 grain de chanvre.
11 mars	330 gr. 1 petit pois	530 gr. 1 pois	360 gr. 1 petit pois
25 mars	305 gr. 1 pois et turgescence au point de l'inoculation	510 gr. 1 gros pois et fistule au point de l'inoculation	306 gr. 1 pois
7 avril	310 gr. 1 pois et fistule au point de l'inoculation	560 gr. 1 gros pois et fistule cicatrisée	420 gr. <i>idem.</i>
25 avril	250 gr. 1 pois et fistule cicatrisée	500 gr. <i>idem.</i>	395 gr. <i>idem.</i>
12 mai	220 gr 1 pois	540 gr. 1 pois chiche	405 gr. <i>idem</i> , avec fistule.
26 mai	Mort le 15 mai perte de poids : 230 gr.	510 gr. 1 gros pois chiche	350 gr. 1 pois, et fistule cicatrisée.
13 juin		480 gr. <i>idem.</i>	300 gr. 1 gros pois.
5 juillet		470 gr. <i>idem.</i>	290 gr. <i>idem.</i>
		Sacrifié le 5 juillet. perte de poids : 120 gr.	Sacrifié le 5 juillet perte de poids : 70 gr.

Cobaye N° 1

Tué le 5 juillet 1933.

Ganglions inguinaux : Caséeux, mesurant 1 cm. 5 × 1 cm. et 1 cm. × 6 mm.

Ganglions lombaires : Peu développés (8 mm. × 4 mm. à droite, 7 mm. × 4 mm. à gauche).

Rate : Hypertrophiée, criblée de fines granulations blanches.

Foie : Lésions rares et peu étendues. Présence de deux ganglions hépatiques de 6 mm. de diamètre.

Reins : Aspect normal.

Poumons : Faiblement hypertrophiés, parsemés de fines granulations blanches d'un diamètre variant de 1/2 à 2 mm. Présence de deux ganglions trachéo-bronchiques, de 5 et 8 mm. de diamètre.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX COBAYES
DES SÉRIES B1 ET B2

En résumé, parmi les cobayes de la série B1, seul le cobaye N° 1 a survécu aux injections de doses massives de bacilles morts.

Chez cet animal, à l'autopsie, les ganglions inguinaux sont très peu développés comparativement à ceux des animaux témoins ; par contre, les ganglions lombaires sont très volumineux.

Le foie est peu envahi ; la rate, sans lésions visibles, présente une réaction périphérique de tissu fibreux.

Au point de vue pulmonaire, au contraire, les lésions sont plus nombreuses que chez les cobayes témoins ; les injections de bacilles morts ont favorisé, semble-t-il, la dissémination du bacille et la multiplication des lésions, tout en ralentissant peut-être l'évolution.

L'examen histologique, en effet, est en faveur d'un processus très actif de défense de l'organisme.

Les résultats fournis par les cobayes de la série B2 sont des plus défavorables. Les bacilles dégraissés, injectés à fortes doses en un temps très court (injections très rapprochées), n'ont eu aucun effet curatif. Les lésions, chez les animaux traités, sont comparables à celles des témoins ; il semble toutefois qu'il existe en général une plus forte réaction ganglionnaire que chez les témoins.

CHAPITRE VII

ESSAIS DE SÉROTHÉRAPIE ANTITUBERCULEUSE CHEZ LE LAPIN ET LE COBAYE

La sérothérapie est un domaine communément exploité de manière féconde dans la lutte contre les maladies aiguës d'origine microbienne. Il était donc permis de se demander si dans le cas de la tuberculose, maladie chronique, les faits étaient comparables.

De nombreux essais de sérothérapie antituberculeuse ont été tentés par les auteurs ; et nous devons rappeler ici que, dans son étude expérimentale du B C G, CALMETTE avait été amené à examiner les effets des sérums riches en anticorps tuberculeux sur le bacille de KOCH *in vitro* et *in vivo*. Un sérum où l'on avait décelé la présence de sensibilisatrices à un taux élevé était-il capable de lyser *in vitro* le bacille ou d'enrayer l'évolution de la maladie chez l'animal expérimentalement infecté avec des bacilles virulents ?

Les résultats de ces essais se sont montrés négatifs ; d'où la conclusion de l'auteur que « les sensibilisatrices antituberculeuses du sérum de cheval n'exercent aucune action favorable sur la marche de l'infection tuberculeuse », et qu' « il semble vain de placer le moindre espoir dans leur utilisation thérapeutique sous la forme de sérums dits antituberculeux ». Au cours de ses nom-

breuses expériences, l'auteur avait même noté que l'introduction du sérum dans l'organisme animal tuberculeux paraissait aggraver l'évolution de la maladie ; ce qui indiquait la présence probable, dans le sérum, de substances nocives favorisant le développement de l'infection. Nous avons jugé intéressant de reprendre ces données en les appliquant à nos recherches personnelles.

Nous avons en effet indiqué, dans un précédent chapitre, comment nous avons pu obtenir, par des injections répétées de bacilles tuberculeux tués, chez l'âne, un sérum riche en agglutinines et sensibilisatrices. Nous avons utilisé un tel sérum à divers essais de traitement chez le cobaye et le lapin tuberculeux ; nous consignons, dans le présent chapitre, les résultats de notre expérimentation qui se trouvent, ainsi que le montrera l'exposé des faits, en parfaite concordance avec ceux de CALMETTE.

I. — Essai du sérum d'âne préparé sur l'animal sain.

Nous avons cru devoir rechercher, antérieurement à nos essais de traitement sérothérapique chez l'animal tuberculisé, quelle était l'action du sérum d'animal préparé, riche en anticorps tuberculeux, sur l'animal sain, en particulier sur le lapin.

Nous avons à envisager les effets de ce sérum au double point de vue de sa toxicité ou de son innocuité, et de la transmission des anticorps chez l'animal, aboutissant à un état d'immunité passive.

Deux lapins neufs (*lapins* N^o 1 et N^o 2) nous ont servi à cet essai. Au préalable, nous avons recherché les anticorps susceptibles d'exister à l'état normal dans leur sérum ; pour cela, la réaction d'agglutination a été pratiquée avant tout traitement, le 4 novembre 1932, sur le sérum de ces deux animaux (1).

Les résultats de notre expérimentation ont été consignés en un tableau.

(1) Il est à rappeler, en effet, que le sérum d'une espèce animale donnée peut être agglutinant, à l'état normal, vis-à-vis d'une espèce microbienne déterminée. C'est ainsi que le sérum humain peut, d'après COURMONT, agglutiner exceptionnellement le bacille tuberculeux jusqu'au taux de dilution de 1/5^e.

DATES	Lapin neuf N° 1	Lapin neuf N° 2
4 novembre 1932	1° <i>Agglutination</i> Dilutions au 24 h. après 1/10 + — — — — 1/15 — — — — — 1/25 — — — — — 1/50 — — — — — 2° <i>Injection</i> (voie sous-cutanée) 5 cc. de sérum d'âne tyndallisé, provenant de la saignée du 22 octobre et agglutinant le bacille de Koch au taux de 1/500.	1° <i>Agglutination</i> Dilutions au 24 h. après 1/10 + — — — — 1/15 — — — — — 1/25 — — — — — 1/50 — — — — — 2° <i>Injection</i> (voie sous-cutanée) 10 cc. de sérum d'âne tyndallisé, provenant de la saignée du 22 octobre et agglutinant au taux de 1/500.
5 novembre (24 heures après l'injection)	<i>Agglutination</i> Dilutions au 24 h. après 1/10 — + — — — 1/15 + — — — — 1/25 + — — — — 1/50 — — — — —	<i>Agglutination</i> Dilutions au 24 h. après 1/10 — + + + + 1/15 + + — — — 1/25 + — — — — 1/50 — — — — —
7 novembre (67 heures après l'injection)	<i>Agglutination</i> Dilutions au 24 h. après 1/10 + + — — — 1/15 + — — — — 1/25 + — — — — 1/50 — — — — —	<i>Agglutination</i> Dilutions au 24 h. après 1/10 + — + + + 1/15 + + — — — 1/25 + — — — — 1/50 — — — — —
9 novembre	<i>Injection</i> 3 cc. de sérum d'âne tyndallisé.	<i>Injection</i> 5 cc. de sérum d'âne tyndallisé.
12 novembre	<i>Injection</i> 2 cc. de sérum d'âne tyndallisé.	<i>Injection</i> 3 cc. de sérum d'âne tyndallisé.
14 novembre (48 heures après l'injection)	<i>Agglutination</i> Dilutions au 24 h. après 1/10 — — — — — 1/15 — — — — — 1/25 — — — — — 1/50 — — — — —	<i>Agglutination</i> Dilutions au 24 h. après 1/10 + + + + + 1/15 + + — — — 1/25 + — — — — 1/50 — — — — —
19 novembre (7 jours après l'injection)	<i>Agglutination</i> Dilutions au 24 h. après 1/10 + + — — — 1/15 — — — — — 1/25 — — — — — 1/50 — — — — —	<i>Agglutination</i> Dilutions au 24 h. après 1/10 — + + + + 1/15 — + — — — 1/25 — — — — — 1/50 — — — — —
21 novembre		Déviations du complément : réaction négative.
	Mort le 28 novembre. Perte de poids : 420 gr.	Mort le 8 décembre. Perte de poids : 310 gr.

Ils montrent que le pouvoir agglutinant est transmis passivement au lapin, mais que le taux d'agglutinines observé est très faible. L'agglutinine paraît se comporter comme si elle était simplement diluée dans un liquide en quantité égale à celle du sérum de l'animal injecté.

D'autre part, la mort de ces animaux, survenue dans un délai rapide et succédant à une chute de poids très accusée, semblait indiquer la réelle toxicité du sérum.

II. — Essais de sérothérapie chez le lapin.

SÉRIE C2

1^o Inoculation.

Le 2 décembre 1932, parallèlement aux lapins des séries A' et B2 et aux lapins témoins N^o 1, N^o 2 et N^o 3, communs à ces séries, quatre animaux neufs, les *lapins* N^o II, N^o III, N^o IV et N^o V, sont tuberculisés avec 100.000 bacilles bovins virulents (souche VALLÉE).

2^o Traitement curatif.

Les injections de sérum par voie sous-cutanée sont commencées au lendemain de l'inoculation et poursuivies à quatre ou cinq jours d'intervalle, aux doses suivantes :

	Lapins N ^o II et N ^o III	Lapins N ^o IV et N ^o V
Le 3 déc. 1932	15 cc. de sérum d'âne (provenant de la saignée du 5 novembre)	10 cc. de sérum.
Le 7 décembre	10 cc. de sérum	5 cc. de sérum.
Le 12 décembre	10 cc. de sérum.	5 cc. de sérum.

3^o Résultats de l'expérimentation.

Lapin N^o II

Tuberculisé le 2 décembre ; mort le 23 décembre 1932.
Pas de lésions.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 1 kg. 710 ; poids final : 1 kg. 470 ; perte de poids : 240 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION :

Le 19 décembre :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/10	+ + + + +	1/75	+ + + — —
1/25	+ + + + +	1/100	+ — — — —
1/50	+ + + + —	1/150	—

Lapin N^o III

Tuberculisé le 2 décembre 1932 ; mort le 25 mars 1933, après trois mois et demi de vie utile.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 1 kg. 710 ; poids final : 1 kg. 880 ; augmentation de poids : 170 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION :

Le 19 décembre :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/10	+ + + + +	1/100	+ + + + +
1/25	+ + + + +	1/150	+ — — — —
1/50	+ + + + +	1/200	—
1/75	+ + + + +		

Le 20 janvier :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/10	+ + + + +	1/100	+ — — — —
1/25	+ + + + +	1/150	—
1/50	+ + + — —	1/200	—
1/75	+ + — — —		

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Faiblement hypertrophiés, parsemés de granulations blanches d'un diamètre variant de 1 et 2 mm. à 8 mm.

Reins et Rate : Aspect normal.

Lapin N° IV

Tuberculisé le 2 décembre 1932 ; mort le 28 avril 1933.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 340 ; poids final : 1 kg. 630 ; perte de poids : 710 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION :

Le 19 décembre 1932 :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/10	+++++	1/100	---++
1/25	+++++	1/150	+++--
1/50	+++++	1/200	---
1/75	+r+++		

Le 20 janvier 1932 :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/10	+++rr	1/100	---
1/25	++rrr	1/150	---
1/50	+++---	1/200	---
1/75	+-----		

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Considérablement hypertrophiés, criblés de lésions généralement petites (1 à 2 mm. de diamètre) et caséifiées. Quelques plages caséieuses plus étendues.

Reins : Nombreuses granulations blanches de 1 à 2 mm.

Rate : Aspect normal.

Lapin N° V

Tuberculisé le 2 décembre 1932 ; mort le 28 avril 1933.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 280 ; poids final : 1 kg. 780 ; perte de poids : 500 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Hypertrophiés, ils présentent de nombreuses granulations blanches, de diamètre variable et pouvant atteindre 1 cm. × 8 mm.

Reins : Lésions rares, ne dépassant pas 1 mm.

Rate : Aspect normal.

III. — Tentatives de séro-vaccination chez le lapin.

Parallèlement aux lapins de la série C2, traités uniquement par le sérum, un certain nombre d'animaux constituant la série D2 ont subi un traitement mixte par sérothérapie et vaccinothérapie.

SÉRIE D2.

Les lapins N° 8, N° 9 et N° 10 sont tuberculisés le 2 décembre 1932 avec 100.000 bacilles de KOCH bovins virulents (souche VALLÉE).

1° Traitement curatif.

La série des injections est effectuée, chez ces animaux, de la manière suivante :

Lapin N° 8

Le 3 décembre 1932 : 15 cc. de sérum + 2 milliards $\frac{1}{2}$ de bacilles.
Le 7 décembre — : 10 cc. de sérum + 5 milliards de bacilles.
Le 12 décembre — : 10 cc. de sérum + 8 milliards de bacilles.

Lapins N° 9 et N° 10

Le 3 décembre 1932 : 10 cc. de sérum + 2 milliards $\frac{1}{2}$ de bacilles.
Le 7 décembre — : 5 cc. de sérum + 5 milliards de bacilles.
Le 12 décembre — : 5 cc. de sérum + 8 milliards de bacilles.

Le sérum et l'émulsion vaccinale (bacilles éthérés-iodés) sont aspirés successivement dans la seringue et injectés simultanément à l'animal par la voie sous-cutanée.

2° Résultats de l'expérimentation.

Lapin N° 8

Tuberculisé le 2 décembre ; mort sans lésions le 12 décembre 32.

Lapin N° 10

Tuberculisé le 2 décembre 1932 ; mort le 25 mars 1933, après trois mois et demi de vie utile.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 2 kg. 180 ; poids final : 2 kg. 020 ; perte de poids : 160 gr.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Fortement hypertrophiés, littéralement criblés de granulations blanches, parfois très étendues.

Reins : Granulations assez nombreuses mais de faibles dimensions (1/2 à 1 mm. de diamètre).

Rate : Aspect normal.

Lapin N° 9

Tuberculisé le 2 décembre 1932 ; mort le 11 avril 1933, après quatre mois environ de vie utile.

VARIATIONS DU POIDS. — Poids initial : 1 kg. 780 ; poids final : 1 kg. 660 ; perte de poids : 120 gr.

RÉACTION D'AGGLUTINATION :

Le 6 janvier 1933 :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/200	++ ++	1/800	++ ++
1/300	++ ++	1/1000	++ ++
1/400	++ ++	1/1200	++ ++
1/700	++ ++	1/1300	—

Le 27 janvier :

<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>	<i>Dilutions de sérum</i>	<i>24 h. après</i>
1/50	++ ++	1/500	++ ++
1/100	++ ++	1/600	++ ++
1/200	++ ++	1/700	++ ++
1/400	++ ++	1/800	—

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE. — *Poumons* : Hypertrophiés, envahis de granulations blanches caséuses.

Reins, Rate : Aspect normal.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX LAPINS DES SÉRIES C2 ET D2

En résumé, chez les animaux de la série C2, l'évolution de la maladie n'a pas été influencée favorablement par les injections de sérum. Les sujets traités sont morts dans un délai de trois à quatre mois, après avoir subi une chute de poids parfois considérable (710 gr. chez le lapin N° IV).

Les agglutinines du sérum injecté se sont transmises passivement à l'animal et ont atteint, chez celui-ci, un taux oscillant entre 1/100 et 1/150, pour s'abaisser ensuite autour de 1/50.

L'autopsie a révélé l'hypertrophie intense des poumons et la multiplicité des lésions pulmonaires et rénales en voie de caséification. Dans le cas des animaux de la série D2, soumis à un traitement mixte (sérothérapie et vaccinothérapie), nous pouvons conclure que la toxicité des bacilles injectés à fortes doses (15 milliards et demi en tout) n'a pas été neutralisée par l'addition du sérum.

Le taux des agglutinines s'est montré plus élevé que chez les lapins traités par les bacilles seuls (jusqu'à 1/1200 chez le lapin N° 9) ; mais les résultats de l'autopsie ont été comparables à ceux fournis par ces derniers : hypertrophie considérable des poumons, multiplication intense des lésions qui criblent littéralement les lobes pulmonaires.

IV. — Essais de sérothérapie chez le cobaye.

SÉRIE C1

1° Inoculation.

Le 17 février 1934, six cobayes neufs sont tuberculisés, en vue de nos essais de sérothérapie, avec 50.000 bacilles tuberculeux virulents du type humain (souche RATTI de l'Institut PASTEUR).

Les cobayes N° 1a, N° 2, N° 3, non traités, joueront le rôle d'animaux témoins ; les cobayes N° 4, N° 5, N° 6, seront traités

par le sérum d'âne tyndallisé, provenant de la saignée du 30 juin 1933. Ce sérum, qui au moment du prélèvement de sang agglutinait au taux de 1/400, n'agglutine plus qu'au taux de 1/300.

2° Traitement curatif.

Les animaux traités reçoivent, par voie sous-cutanée :

Le 21 février 1934	1 cc. de sérum.
24 février —	1 cc. —
28 février —	1 cc. —
5 mars —	1 cc. —
9 mars —	1 cc. —
14 mars —	1 cc. —
17 mars —	1 cc. —
21 mars —	1 cc. —
24 mars —	1 cc. —
29 mars —	1 cc. —
3 avril —	1 cc. —
9 avril —	1 cc. —
13 avril —	1 cc. —
17 avril —	1 cc. —
21 avril —	1 cc. —
25 avril —	1 cc. —
30 avril —	1 cc. —

Soit au total : 17 cc. de sérum en deux mois et 9 jours.

3° Résultats de l'expérimentation.

a) *Cobayes tuberculeux témoins* N° 1a, N° 2, N° 3.

Inoculés sous la peau de la cuisse droite, le 17 février 1934, avec 50.000 bacilles humains virulents. Le cobaye N° 1a meurt le 5 juin 1934 ; le cobaye N° 2, le 26 juin ; enfin, le cobaye N° 3 est sacrifié le 26 juin également.

VARIATIONS DU POIDS

	Cobaye N° 1a	Cobaye N° 2	Cobaye N° 3
Poids initial	615 gr.	550 gr.	530 gr.
Poids final	550 gr.	535 gr.	520 gr.
Perte de poids	65 gr.	15 gr.	10 gr.

ÉVOLUTION DES GANGLIONS INGUINAUX

	Cobaye N° 1 ^a	Cobaye N° 2	Cobaye N° 3
24 février 1934	1 grain de millet	2 grains de millet	empâtement
5 mars	1 gros grain de chanvre et 2 grains de millet	2 grains de chanvre	2 grains de chanvre
17 mars	1 petit pois et 2 grains de chanvre	1 grain de chanvre et 1 pois.	1 grain de chanvre et 1 petit pois
24 mars	<i>idem.</i>	2 pois	<i>idem.</i>
9 avril	1 pois et 2 grains de chanvre.	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>
18 avril	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>	1 petit pois et 1 gros pois
27 avril	1 gros pois et 2 grains de chanvre ; fistule au point inoculé.	2 pois et grosse tur- gescence crurale ; fis- tule au point inoculé.	<i>idem.</i>
5 mai	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>
12 mai	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>
19 mai	1 grain de chanvre 1 petit pois 1 haricot	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>
26 mai	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>
2 juin	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE

Cobaye témoin N° 1a

Ganglions inguinaux : A droite, une chaîne de trois ganglions, mesurant respectivement 1 cm. 5 × 7 mm., 1 cm. × 5 mm., 6 mm. × 4 mm.

Ganglions lombaires : A droite, ganglion de 9 mm. × 5 mm. ; à gauche, un ganglion moins volumineux (7 mm. × 4 mm.).

Rate : Hypertrophiée, granuleuse d'aspect, avec de rares lésions visibles.

Foie : Hypertrophié, présentant quelques grandes plages caséuses.

Poumons : Parsemés de granulations caséuses, d'un diamètre n'excédant pas 2 mm. Quelques granulations grises punctiformes.

Cobaye témoin N° 2

Ganglions inguinaux : A droite, deux ganglions mesurant 1 cm. 5 × 1 cm. et 1 cm. 2 × 9 mm. A gauche, un petit ganglion de 7 mm. × 5 mm.

Ganglions lombaires : A droite, un ganglion de 8 mm. × 5 mm. ; à gauche, de 7 mm. × 4 mm.

Rate : Fortement hypertrophiée, envahie de granulations blanches, caséuses.

Foie : D'aspect granuleux dans son ensemble, il n'offre pas de lésions individualisées.

Poumons : Hypertrophiés, parsemés de granulations blanches, nombreuses et assez étendues (1 à 4 mm. de diamètre). Quelques granulations grises punctiformes. Présence d'un volumineux ganglion trachéo-bronchique.

Cobaye témoin N° 3

Ganglions inguinaux : A droite, un très volumineux ganglion ayant la forme d'un haricot (2 cm. 8 × 1 cm.) ; un deuxième ganglion, plus petit (9 mm. × 6 mm.).

Ganglions lombaires : 1 cm. de diamètre à droite, 8 mm. à gauche.

Rate : Hypertrophiée, d'aspect granuleux, sans lésions visibles.

Foie : Hypertrophié, envahi de volumineuses lésions caséifiées.

Poumons : Lésions peu nombreuses, granulations grises pour la plupart ; quelques lésions caséifiées. Ganglion trachéo-bronchique très développé.

b) *Cobayes tuberculeux* N° 4, N° 5, N° 6, traités par le sérum.

Inoculés le 17 février 1934 avec 50.000 bacilles du type humain, virulents (souche RATTI).

VARIATIONS DU POIDS

	Cobaye N° 4	Cobaye N° 5	Cobaye N° 6
Poids initial.....	400 gr.	465 gr.	550 gr.
Poids final	390 gr.	570 gr.	510 gr.
	Perte 15 gr.	Augm. 105 gr.	Perte 40 gr.

ÉVOLUTION DES GANGLIONS INGUINAUX

	Cobaye N° 4	Cobaye N° 5	Cobaye N° 6
24 février 1934	1 grain de millet	2 grains de millet	1 grain de millet
5 mars	1 grain de chanvre	<i>idem.</i>	1 grain de chanvre
17 mars	<i>idem.</i>	2 grains de chanvre	1 petit pois
24 mars	1 petit pois	1 grain de chanvre et 1 petit pois	1 pois
9 avril	1 pois	2 petits pois, fistule au point inoculé	<i>idem.</i>
18 avril	<i>idem.</i>	2 petits pois, fistule cicatrisée.	1 gros pois, fistule au point inoculé.
27 avril	1 gros pois	2 petits haricots	1 petit haricot, fistule cicatrisée.
5 mai	1 gros pois	<i>idem.</i>	1 haricot
12 mai	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>
19 mai	1 haricot	1 gros haricot et 1 petit haricot.	<i>idem.</i>
26 mai	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>
2 juin	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE

Cobaye N° 4

Sacrifié le 23 juin 1934, après quatre mois de vie utile.

Ganglion inguinal : Très volumineux (4 cm. $\times$ 1 cm.), de forme allongée, d'aspect translucide.

Ganglions lombaires : Caséeux, mesurant 9 mm. de diamètre (ganglion de droite) et 8 mm. (ganglion de gauche).

Rate : Fortement hypertrophiée, avec lésions rares.

Foie : D'aspect granuleux ; quelques plages caséifiées.

Poumons : Faiblement hypertrophiés, présentant des lésions caséuses, cerclées d'une auréole grisâtre. Présence d'un volumineux ganglion trachéo-bronchique.

Cobaye N° 5

Sacrifié le 18 juin 1934, après quatre mois de vie utile.

Ganglions inguinaux : Fortement hypertrophiés (4 cm. $\times$ 1 cm. et 2 cm. $\times$ 8 mm.).

Ganglions lombaires : Caséeux, assez volumineux (1 cm. de diamètre).

Rate : Hypertrophiée, parsemée de granulations blanches.

Foie : Pas de lésions visibles.

Poumons : Hypertrophiés et envahis de granulations blanches dont quelques-unes sont entourées d'un liseré grisâtre. Présence d'un volumineux ganglion trachéo-bronchique.

Cobaye N° 6

Sacrifié le 23 juin 1934.

Ganglion inguinal : Dur, translucide, de 2 cm. 2 $\times$ 1 cm.

Ganglions lombaires : Ils mesurent respectivement : à droite, 1 cm. 2 de diamètre ; à gauche, 8 mm. de diamètre.

Rate : D'aspect granuleux, hypertrophiée, elle présente un certain nombre de granulations arrondies et proéminentes.

Foie : Rares lésions.

Poumons : Hypertrophiés, criblés de granulations d'un diamètre variant de 1 à 3 mm. Ganglion trachéo-bronchique atteignant le volume d'un gros haricot.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX COBAYES DE LA SÉRIE CI

En résumé, les injections de sérum se sont montrées sans effet chez le cobaye. Il est à remarquer que l'hypertrophie des ganglions inguinaux et lombaires était considérable, ce qui indique peut-être une action du traitement sur le système ganglionnaire. Les lésions viscérales n'en étaient pas moins comparables à celles des animaux témoins.



CHAPITRE VIII

ESSAI DE TRAITEMENT CURATIF, CHEZ LE COBAYE, PAR DES BACILLES TUBERCULEUX (type humain) AVIRULENTS, TUÉS PAR L'ACTION DE LA CHALEUR ET MIS AU CONTACT D'EXTRAIT DE PANCRÉAS AUTOLYSÉ PROVENANT D'UN ANIMAL HYPER- IMMUNISÉ.

Nous avons exposé, dans la première partie de ce travail consacrée à l'histoire de la vaccination antituberculeuse, la méthode de vaccination préconisée par J. AUCLAIR. Nous nous bornerons ici à rappeler que, d'après cet auteur, il existerait dans le pancréas frais des oiseaux, animaux naturellement réfractaires à l'infection tuberculeuse (bacille humain), des substances capables de modifier profondément le bacille tuberculeux et de lui donner des propriétés vaccinales vis-à-vis de la tuberculose humaine. Cette substance du pancréas déterminerait « *in vitro* » la perte de la virulence ; sa présence dans le pancréas des oiseaux serait le résultat d'une vaccination ancestrale, transmise héréditairement.

A la lumière des théories d'AUCLAIR, nous avons recherché si l'introduction de bacilles morts dans l'organisme animal pouvait faire apparaître dans certains organes, dans le pancréas en particulier, des substances capables de modifier le bacille tuber-

culeux et de le transformer en un élément vaccinant. Nous avons utilisé, dans cette dernière série d'expériences, le pancréas frais de l'âne donneur de sérum, sacrifié le 30 juin 1933.

I. — Préparation de l'extrait pancréatique.

A l'autopsie de l'animal, le pancréas, prélevé aseptiquement et débarrassé du tissu graisseux environnant, a été pesé (70 gr.), découpé en menus morceaux à l'aide de ciseaux stériles, et enfin longuement broyé dans un tube en verre épais à l'aide d'un gros agitateur stérile aplati à son extrémité.

Le produit de broyage a été additionné de deux fois son poids (soit 140 gr.) d'eau distillée stérile en vue de l'autolyse, puis abandonné à la glacière à $+4^{\circ}$ pendant deux heures. L'addition, au produit de l'autolyse, de 70 cc. d'une solution aqueuse stérile renfermant 22 gr. 50 de chlorure de sodium pour mille, nous a permis d'obtenir une concentration définitive de 7 gr. 50 de chlorure de sodium. Après un deuxième séjour d'une heure à la glacière, le liquide a été filtré sur gaze stérile.

Nous avons préparé par ailleurs une émulsion de bacilles tuberculeux (souche humaine avirulente cultivée sur milieu de SABOURAUD glyciné), titrant un milliard et demi de bacilles par centimètre cube ; cette émulsion concentrée avait été stérilisée par chauffage à 100° pendant dix minutes.

Nous avons alors mélangé aseptiquement 50 cc. de la solution aqueuse chlorurée provenant du broyage pancréatique et 25 cc. de l'émulsion bacillaire tuée à 100° . La concentration microbienne était ainsi ramenée à 500 millions de bacilles par centimètre cube.

En dernier lieu, le mélange a été formolé par addition de solution sulfitée de trioxyméthylène à raison de 0 cc. 1 pour 20 cc. Nous avons enfin procédé à la mise en ampoules stériles ; celles-ci ont été ensuite portées à l'étuve à 37° pendant dix jours.

Les frottis effectués à ce moment-là n'ont révélé, après colo-

ration par la méthode de ZIEHL-NEELSEN, aucune modification apparente de l'aspect des bacilles.

Après sept mois de séjour à la température du laboratoire, le produit a été utilisé à un essai de traitement curatif chez le cobaye tuberculisé. Les injections ont été effectuées à doses relativement faibles, après dilution au 1/5 de l'émulsion initiale renfermant 500 millions de bacilles par centimètre cube.

II. — Expérimentation chez le cobaye tuberculeux.

SÉRIE DI

1^o Inoculation.

Le 17 février 1934, les *cobayes* N^o 7, N^o 8, N^o 9, N^o 10, sont inoculés parallèlement aux cobayes de la série CI avec 50.000 bacilles tuberculeux du type humain (souche RATTI).

2^o Traitement curatif.

Nous avons procédé, sur ces animaux, à un essai de traitement par les bacilles tués à 100° et mis au contact de l'extrait pancréatique. Ces cobayes ont reçu par voie sous-cutanée, dans la région dorsale :

Le 21 février 1934	: 1 cc. d'émulsion	(100 millions de bacilles)				
24 février	— : 1 cc. 5	—	(150	—	—	)
28 février	— : 2 cc.	—	(200	—	—	)
5 mars	— : 1 cc.	—	(100	—	—	)
9 mars	— : 1 cc. 5	—	(150	—	—	)
14 mars	— : 2 cc.	—	(200	—	—	)
17 mars	— : 1 cc.	—	(100	—	—	)
21 mars	— : 1 cc. 5	—	(150	—	—	)
24 mars	— : 2 cc.	—	(200	—	—	)
29 mars	— : 1 cc.	—	(100	—	—	)
3 avril	— : 1 cc. 5	—	(150	—	—	)
9 avril	— : 2 cc.	—	(200	—	—	)

Soit au total 1 milliard 800 millions de bacilles en un mois et 18 jours.

Ces animaux ont vécu jusqu'au mois de juin 1934 et ont été autopsiés parallèlement aux cobayes témoins N° 1, N° 2, N° 3, communs à la série C1 et à la série D1.

3° Résultats de l'expérimentation.

VARIATIONS DU POIDS

	Cobaye N° 7	Cobaye N° 8	Cobaye N° 9	Cobaye N° 10
Poids initial	490 gr.	690 gr.	375 gr.	570 gr.
Poids final	510 gr.	560 gr.	505 gr.	540 gr.
Augmentation	20 gr.		130 gr.	
Perte		130 gr.		30 gr.

ÉVOLUTION DES GANGLIONS INGUINAUX

	Cobaye N° 7	Cobaye N° 8	Cobaye N° 9	Cobaye N° 10
24 février 1934	1 grain de millet	1 grain de chanvre	2 grains de millet	1 grain de chanvre
9 mars	1 gros gr. de chanvre	1 petit pois	1 grain de chanvre et 1 petit pois	1 petit pois
17 mars	1 petit pois et 2 grains de chanvre	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>
24 mars	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>	1 pois
9 avril	1 pois et 2 grains de chanvre	1 gros pois, fistule au point inoculé.	1 petit pois et 1 pois	1 gros pois, fistule au point inoculé
19 mai	1 gros pois et 2 gros grains de chanvre	1 gros pois, fistule cicatrisée.	<i>idem.</i>	1 gros pois chich
2 juin	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>	<i>idem.</i>	1 gros pois chich fistule cicatrisée

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE

Cobaye N° 7

Inoculé le 17 février ; sacrifié le 13 juin 1934 après quatre mois de vie utile.

Ganglions inguinaux : Un ganglion volumineux (2 cm. $\times$ 1 cm.) accompagné de deux ganglions plus petits mesurant 1 cm. $\times$ 6 mm. et 8 mm. $\times$ 4 mm.

Ganglions lombaires : Hypertrophiés (1 cm. $\times$ 7 mm. à droite et 8 mm. $\times$ 6 mm. à gauche).

Rate : Considérablement hypertrophiée, elle atteint 6 cm. 3 de long sur 1 cm. 6 de large et présente, sur sa face supérieure, une vingtaine de granulations proéminentes et caséuses.

Foie : Il présente un état particulier de dégénérescence graisseuse.

Poumons : Hypertrophiés, criblés de lésions généralement petites, granulations grises pour la plupart, rarement caséifiées.

Cobaye N° 8

Inoculé le 17 février ; mort le 15 juin 1934.

Ganglions inguinaux : Un seul ganglion de 2 cm. $\times$ 1 cm.

Ganglions lombaires : Un ganglion lombaire droit de 7 mm. $\times$ 6 mm. ; un ganglion gauche de 6 mm. $\times$ 5 mm.

Rate : Hypertrophiée, elle présente une volumineuse granulation de 1 cm. de diamètre environ et une dizaine de granulations plus petites, d'un diamètre variant de 1 à 5 mm.

Foie : Grandes plages caséifiées dont l'une atteint 2 cm. $\times$ 1 cm. 5.

Poumons : Hypertrophiés, parsemés de fines granulations blanches ; quelques rares granulations grises.

Cobaye N° 9

Inoculé le 17 février ; mort le 19 juin (quatre mois de vie utile).

Ganglions inguinaux : Au nombre de deux, mesurant respectivement 1 cm. 4 $\times$ 1 cm. et 8 mm. $\times$ 7 mm.

Ganglions lombaires : A droite, un ganglion assez volumineux (1 cm. 2 $\times$ 7 mm.) ; à gauche, un ganglion moins développé (7 mm. $\times$ 4 mm.).

Rate : Faiblement hypertrophiée, elle présente, à sa face supérieure, huit granulations blanches.

Foie : Grandes plages caséifiées.

Poumons : Granulations blanches en assez grand nombre, quelques granulations grises.

Cobaye N° 10

Inoculé le 17 février ; sacrifié le 23 juin 1934.

Ganglion inguinal : Hypertrophie considérable : 2 cm. 8 × 1 cm. 5.

Ganglions lombaires : Un ganglion à droite et à gauche, de même volume. (1 cm. 3 × 1 cm.).

Rate : D'aspect granuleux, elle n'offre que de rares lésions.

Foie : Aspect granuleux.

Poumons : Lésions assez volumineuses, caséuses, parfois cerclées d'un bourrelet gris.

CONCLUSIONS RELATIVES AUX COBAYES DE LA SÉRIE DI

En résumé, dans les conditions expérimentales où nous nous sommes placée, les résultats obtenus sont négatifs.

1) L'évolution des ganglions inguinaux, chez les cobayes traités, ne s'est pas trouvée retardée, par rapport aux cobayes témoins, du fait des injections du vaccin mis au contact de l'extrait pancréatique.

2) Les animaux traités sont morts dans les mêmes délais que les témoins ; ils présentaient à l'autopsie des lésions tuberculeuses généralisées, comparables à celles des témoins.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous avons précédemment indiqué, à la fin de nos divers chapitres, les conclusions relatives à chacune de nos séries d'expériences ; nous serons par conséquent aussi brève que possible dans l'exposé de nos conclusions générales, nous attachant seulement à souligner les principaux résultats obtenus.

Nous rappellerons qu'en immunologie antituberculeuse la plupart des auteurs admettent qu'il est impossible de vacciner les animaux (lapin, cobaye) au moyen de bacilles de KOCH morts.

Nous inspirant des recherches de M. et Mme A.-Ch. HOLLANDE sur la cytologie et le cycle évolutif du bacille tuberculeux, nous avons pensé que les insuccès enregistrés par les auteurs provenaient peut-être de l'emploi, comme vaccins, d'émulsions de bacilles âgés, pauvres en protoplasme et riches en produits toxiques.

Par opposition à de tels microbes, les bacilles au stade jeune se présentaient comme des éléments riches en protoplasme, pauvres en nucléoprotéines (substances éminemment toxiques), et peu chargés de substance acido-résistante. Facilement émulsionnables dans l'eau, de tels éléments présentaient à priori les qualités requises pour l'obtention d'un vaccin.

Nous avons déterminé, en premier lieu, la virulence des bacilles tuberculeux à l'état jeune provenant d'une souche initiale homogène d'ARLOING et fréquemment repiqués sur gélose de SABOURAUD glycinée — l'aspect des cultures rappelle macroscopiquement celui des colonies du type S des auteurs.

A la dose de 50.000 à 500.000 — voire même un million —

ces bacilles à l'état vivant, injectés sous la peau, ne déterminent pas la formation d'adénite inguinale. La virulence légère des bacilles à ce stade se traduit seulement chez l'animal par une perte de poids variant en fonction de la quantité de bacilles injectés. L'état d'allergie spécifique, décelable par l'intra-dermo-réaction de MANTOUX, apparaît au bout d'un mois chez les animaux inoculés pour disparaître ensuite assez rapidement.

Postérieurement à l'action des bacilles vivants, nous avons étudié celle des bacilles tués par des agents chimiques divers tels que le formol (à l'état de trioxyméthylène en solution sulfurée) et l'iode (procédé de RANQUE et SENEZ).

Ces éléments microbiens, dégraissés ou non, injectés par voie intraveineuse ou sous-cutanée, sont aptes à faire naître chez l'animal des anticorps divers tels qu'agglutinines et sensibilisatrices dont le taux s'abaisse d'ailleurs assez rapidement. Les injections répétées de bacilles tués chez l'animal non tuberculeux n'entraînent pas l'apparition de l'allergie (hypersensibilité tuberculinique). La cuti-réaction de VON PIRQUET et l'intra-dermo-réaction de MANTOUX demeurent négatives ; d'autre part, l'injection sous-cutanée de tuberculine n'engendre aucune élévation thermique chez les animaux ayant reçu des doses élevées de bacilles morts.

A faibles doses (quelques millions), ces bacilles sont bien supportés et ne provoquent pas de réaction locale chez l'animal sain ou tuberculeux ; à hautes doses (plusieurs milliards en une seule injection), ils peuvent déterminer la nécrose des tissus, phénomène dû à l'action locale des poisons microbiens et non comparable au phénomène de KOCH.

A doses convenables, les injections de bacilles morts amènent, chez l'animal tuberculeux en hyperthermie, la chute de la température.

Injectés préventivement à doses relativement élevées (trois milliards et demi à sept milliards et demi chez le lapin ; deux milliards et demi chez le cobaye), les bacilles morts créent chez l'animal un état de résistance très marqué à l'infection tuberculeuse.

Chez des lapins inoculés ultérieurement avec 100.000 bacilles

bovins très virulents (souche VALLEE), les poumons, non hypertrophiés, ne présentent que de rares lésions, toujours de petite taille, bien différentes des lésions massives et envahissantes observées chez les animaux témoins.

Chez les cobayés ayant reçu à titre préventif deux milliards et demi de bacilles formolés, l'inoculation de 50.000 bacilles du type humain très virulents (souche RATTI) ne détermine que tardivement l'hypertrophie ganglionnaire inguinale ; le ganglion régresse d'ailleurs par la suite et se sclérose totalement.

L'évolution bacillaire, si elle n'est pas définitivement enrayée, s'effectue du moins très lentement et affecte la forme fibreuse (1).

Ces résultats sont des plus importants si l'on tient compte de l'extrême sensibilité des rongeurs de laboratoire (lapin, cobaye) à l'infection tuberculeuse. De l'avis même de A. CALMETTE, en effet, la prémunition chez ces animaux peut être obtenue dans certaines conditions, mais jamais de manière durable, même avec les bacilles B C G.

Curativement, dans les conditions d'expérience où nous nous sommes placée, nous n'avons pu modifier favorablement, bien au contraire, l'évolution de la tuberculose expérimentale du lapin et du cobaye.

Les injections massives et fréquemment répétées de bacilles morts (6 milliards à 28 milliards en tout chez le lapin, 2 milliards à 15 milliards et demi chez le cobaye) semblent favoriser nettement l'évolution bacillaire. Malgré la présence d'anticorps à un taux élevé dans le sang circulant, les lésions se multiplient et évoluent vers la caséification, entraînant la mort rapide de l'animal bien antérieurement à celle des animaux témoins.

Les résultats négatifs obtenus dans ces conditions ne nous permettent pas de conclure définitivement au sujet de la vaccination curative.

(1) Il est à noter que récemment DEFLANDRE mentionne que les bacilles tuberculeux formolés, injectés préventivement, déterminent chez le cobaye une résistance marquée à l'infection tuberculeuse (*C. R. Soc. Biol.*, juillet 1935). Les résultats de cet auteur viennent ainsi en confirmation des nôtres.

Nous pensons que les résultats dépendent surtout du mode d'administration et du nombre des bacilles injectés.

Les conditions dans lesquelles nous nous sommes trouvée au cours de nos recherches ne nous ont malheureusement point permis d'élucider les effets des bacilles morts injectés curativement à doses faibles, rapprochées ou espacées.

Nous rappellerons en terminant les résultats négatifs de nos essais de sérothérapie dans la tuberculose expérimentale du lapin et du cobaye. Malgré la présence d'anticorps à un taux élevé, le sérum n'influence pas favorablement l'évolution de la maladie.

Le traitement mixte par séro-vaccination, quoique faisant naître une forte proportion d'anticorps, ne nous a pas fourni de résultats plus favorables.

Enfin, notre dernière série d'expériences sur le cobaye nous autorise à conclure que chez l'animal hyperimmunisé il ne paraît pas exister de localisation des anticorps bacillaires dans les organes tels que le pancréas.

En ma qualité de Censeur de
tour j'ai lu la Thèse ayant pour
titre :

*Contribution à l'étude de l'immunité
antituberculeuse.*

par Mlle J. PENN.

Je pense que la Faculté peut en
permettre l'impression.

Montpellier, le 10 Février 1936.

Le Professeur,
HOLLANDE.

Vu :

Montpellier, le 14 Février 1936

Le Doyen,

ASTRUC.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Montpellier, le 15 Février 1936.

Le Recteur,

TAILLIART

BIBLIOGRAPHIE

1931. ALBERT-WEIL (J.). — Les poisons du bacille tuberculeux et les réactions cellulaires et humorales dans la tuberculose. Esquisse d'une conception nouvelle des processus pathogéniques de la tuberculose. (J.-B. Baillière et fils, éditeurs, Paris, 1931.)
1927. ANDERSON (R.-J.). — The separation of lipid fraction from tubercle bacilli. (*J. Biol. Chemistry*, juillet 1927, t. LXXIV, p. 534.)
1898. ARLOING (S.). — Sur l'obtention de cultures et d'émulsions homogènes du bacille de la tuberculose humaine en milieu liquide et sur une variété mobile de ce bacille. (*C. R. Acad. Sciences*, 9 mai 1898, p. 1319.)
1906. — Production expérimentale de variétés transmissibles de bacilles de la tuberculose et de vaccins antituberculeux. (*C. R. Acad. Sciences*, 1906, t. 142, p. 1395.)
1906. — Sur l'indication de la voie digestive pour la vaccination antituberculeuse des jeunes ruminants. (*C. R. Acad. Scienc.* t. 142, p. 1487.)
1909. — Vaccination antituberculeuse chez le bœuf. (*C. R. Acad. Sciences*, 1909, tome 149, p. 962.)
1898. ARLOING (S.) et COURMONT (P.). — De l'obtention des cultures du bacille de KOCH les plus propices à l'étude du phénomène de l'agglutination par le sérum sanguin. (*C. R. Acad. Sciences*, 8 août 1898, p. 312.)
1897. AUCLAIR (J.). — Etude expérimentale sur les poisons du bacille

- tuberculeux humain. Essais de vaccination et de traitement. (*Thèse doctorat*, Paris, 1897.)
1930. — Vaccination préventive et curative du lapin et du cobaye contre la tuberculose humaine. Ses indications et ses effets chez l'homme. (Masson et Cie, éditeurs, Paris, 1930.)
1908. AUCLAIR (J.) et PARIS (L.). — Constitution chimique et propriétés biologiques du protoplasme du bacille de la tuberculose. (*Arch. de Méd. exp. et d'Anat. path.*, 1908, t. XX, pp. 737-752.)
1913. BESREDKA (A.). — Etude sur le bacille tuberculeux. (*C. R. Acad. Sciences*, t. CLVI, 26 mai 1913.)
1914. BESREDKA (A.) et JUPILLE (F.). — De la valeur de la réaction de fixation au cours de la tuberculose. (*C. R. Soc. Biol.*, 1914, t. LXXVI, p. 1977.)
1920. BOQUET (A.) et NÈGRE (L.). — Mode de préparation et pouvoir antigène des extraits alcooliques de bacilles tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, juin 1920, t. LXXXIII, p. 922.)
1921. — Sur la recherche des anticorps tuberculeux par les extraits méthyliques de bacilles tuberculeux. (*Revue de la Tuberculose*, 1921, t. II, p. 366.)
1923. BORREL (A.), BOEZ (L.) et COULON (A. DE). — Etude comparée de la virulence et de la toxicité des corps microbiens et de la tuberculine de divers échantillons de bacilles tuberculeux. Exaltation de la virulence de souches atténuées. Essais de vaccination. (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1923, t. 37, p. 1012.)
1911. BRUYANT (L.). — Effets des inoculations de doses faibles et répétées de bacilles tuberculeux chez le cobaye. (*C. R. Soc. Biol.*, 1911, t. 71, p. 143.)
1927. CALMETTE (A.). — La vaccination préventive contre la tuberculose par le B. C. G. (Masson et Cie, éditeurs, Paris, 1927.)
1927. — L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et chez les animaux. (Masson et Cie, éditeurs, Paris, 1927.)
1907. CALMETTE (A.), GUÉRIN (C.) et BRETON (M.). — Contribution à l'étude de la tuberculose expérimentale du cobaye.

- Infection et essais de vaccination par la voie digestive.
(*Annales Institut Pasteur*, 1907, t. 21, pp. 401, 413.)
1914. CALMETTE (A.), et GUÉRIN (C.). — Contribution à l'étude de l'immunité antituberculeuse chez les bovidés. (*Annales Institut Pasteur*, 1914, tome 28, p. 329.)
1909. CALMETTE (A.) et MASSOI (L.). — Sur les conditions d'obtention de la réaction de déviation de l'alexine avec les antigènes et les anticorps tuberculeux. (*C. R. Soc. Biologie*, 13 nov. 1909, t. LXVI, p. 528.)
1911. — Anticorps et antigènes tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXI, p. 191, juillet 1911.)
1913. — Recherches sur le bacille tuberculigène de FERRAN. (*C. R. Soc. Biol.*, 1913, t. 74, p. 21.)
1934. CAMBOULIVES (Mlle E.). — Contribution à la recherche de l'agglutinine et de la sensibilisatrice dans le sérum des tuberculeux. (*Thèse doctorat en Pharmacie*, Montpellier, 1934.)
1930. CEVEY. — Pour guérir les tuberculeux. (J.-B. Baillière et fils, éditeurs, Paris, 1930.)
1926. COGHILL (R.-D.). — The alkali-soluble protein of the tubercle bacillus. (*J. Biol. Chem.*, 1926, t. LXX, p. 449.)
1934. DÉJEAN (Ch.) et CAMBOULIVES (Mlle E.). — La réaction d'agglutination de HOLLANDE ; son application au diagnostic des tuberculoses oculaires latentes. (*Archives de la Société des Sciences médicales et biologiques de Montpellier et du Languedoc méditerranéen*, 1934, fasc. II, pp. 63-66.)
1935. — Le dépistage des tuberculoses oculaires torpides par la réaction d'agglutination de HOLLANDE. (*Archives d'Ophthalmologie*, avril 1935, t. 52, n° 4.)
1903. DEMBINSKI. — Note sur l'accoutumance des lapins aux doses mortelles de cadavres de bacilles tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1903, t. 55, p. 1409.)
1933. DENYS (P.). — Dissociation d'une souche homogène de bacilles de KOCH en types S. et R. (*Bulletin de l'Académie Royale de Médecine de Belgique*, 1933, Ve série, t. XIII, p. 12.)

1903. FERRAN. — Notes sur les modifications du bacille de KOCH. (*Arch. méd. expér.*, 1^{re} série, t. 15, p. 753.)
1923. — Les mutations bacillaires. (Barcelone, Institut Ferran, 1923.)
1934. GISMONDI (A.). — A propos de la contagion de la tuberculose. (*Presse Médicale*, 7 avril 1934, n° 28, p. 558.)
1920. GORIS. — Composition chimique du bacille tuberculeux. (*Ann. Institut Pasteur*, 1920, t. 34, pp. 497 et suiv.)
1891. GRANCHER et LEDOUX-LEBARD. — Tuberculose humaine et aviaire. Action de la chaleur sur la fertilité et la virulence du bacille de KOCH. (*Arch. de méd. expérimentale et d'anat. pat.*, janv. 1891, n° 1.)
1925. GRASSET (Ed.). — L'antigène (diaplyte) de DREYER en médecine expérimentale. (*Revue de la Tuberculose*, 1925, t. VI, p. 355.)
1888. HAMMERSCHLAG. — Bacteriologisch chemisch untersungen über tuberkelbazillen. (*Sitzungsber d. K. Akad. d. Wissensch*, 13 déc. 1888.)
1907. HEYMANS (J.-F.). — La vaccination antituberculeuse chez les bovidés. (*Annales internationales de Pharmacodynamie*, 1907, t. 17, p. 133.)
1910. — Sur la vaccination antituberculeuse chez les bovidés. (*Annales intern. de Pharmacodynamie*, 1910, t. 20, p. 147.)
1928. HOLLANDE (A.-Ch.) et CRÉMIEUX (Mlle G.). — Méthode de numération directe des bacilles de KOCH. (*C. R. Soc. Biol.*, 9 juin 1928, t. XCIX, p. 122.)
1931. HOLLANDE (A.-Ch.) et HOLLANDE (Mme G.). — Histogénèse et cytologie du follicule tuberculeux. (*Archives d'Anatomie microscopique*, 1931, t. XXVII, n° 2, p. 208.)
1932. — Etyde cytologique de quelques microbes pathogènes à l'homme ; leurs cycles évolutifs. (*Archives de Zoologie expérimentale et générale*, 1932, t. 72, fasc. 6. *Protistologica* n° XXXII.)
1933. HOLLANDE (A.-Ch.) et PENN (Mlle J.). — Méthode de recherche des agglutinines et des sensibilisatrices en présence d'un

- bacille de KOCH émulsionnable. (*C. R. Soc. Biol.*, 24 juin 1933, t. CXIII, p. 889.)
1922. JOHNSON (T.-B.) et BROWN (E.-B.). — Nucleic acid from the nucleoprotein of tubercle bacilli (tuberculinic acid). (*J. Biol. Chem.*, 1922, t. LIV, pp. 721-731.)
1922. — The pyrimidines contained in tuberculinic acid. The nucleic acid of tubercle bacilli. (*J. Biol. Chem.*, 1922, t. LIV, p. 731-737.)
1930. LE GUYON (R.-F.) et ALBERT-WEIL (J.). — Séparation par ultra-filtration de liquides de cultures en milieu synthétique du poison exogène du bacille tuberculeux dit « tuberculine ». (*C. R. Soc. Biol.*, 20 sept. 1930, t. CIV, p. 1327.)
1921. LONG (E.). — *American Rev. of tuberc.*, 1921, t. IV, p. 842.)
1926. LONG (E.) et SEIBERT (F.). — *Amer. rev. of tuberc.*, 1926, t. XIII, pp. 393 à 448.
1933. MARAGLIANO (E.). — Dogmi di patologia tubercolare infranti. (Extrait des *Annales de l'Institut Maragliano*, Genève, septembre, octobre, novembre, décembre 1933.)
1931. MATHIEU (Mlle M.). — Le bleu de Nil associé à l'acide cinnamique dans le traitement de la tuberculose expérimentale du lapin et du cobaye. Etude d'un vaccin tuberculeux obtenu par simple contact du bacille bovin avec le chlorhydrate de bleu de Nil. (*Thèse doctorat en Pharmacie*, Montpellier, 1931.)
1898. MONGOUR et BUARD. — Note sur le séro-diagnostic de la tuberculose. (*C. R. Soc. Biol.*, déc. 1898.)
1899. — Sur l'agglutination du bacille tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, juillet 1899.)
1926. MUELLER (H.). — A chemical study of the specific elements of tuberculin. (*J. experimental medicine* Baltimore, 1926, t. XLIII, p. 1.)
1921. NÈGRE (L.) et BOQUET (A.). — Sur le pouvoir antigène des extraits méthyliques du bacille tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, p. 76, 15 janvier 1921.)
1932. — Le traitement de la tuberculose par l'antigène méthylique (antigénothérapie). (Masson et Cie, éditeurs, Paris, 1932.)

1930. NÈGRE (L.) et VALTIS (J.). — Action des extraits acétoniques de bacille de KOCH sur les propriétés pathogènes des éléments filtrables du virus tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1930, t. CV, n° 28, p. 183.)
1928. PENN (Mlle J.). — Neutralisation des toxines et préparation des vaccins par addition de sulfo-formol (trioxyméthylène en solution sulfitée). Antivirus tuberculeux sulfo-formolé dans la tuberculose expérimentale du cobaye. (*Thèse doctorat en Pharmacie*, Montpellier, 1928.)
1891. PRUDDEN et HODENPYL. — Studies on the action of dead bacteria in the living body. (*New-York Med. Journal*, 6 et 20 juin 1891.)
1901. RAPPIN (M.). — Action de l'urée sur les cultures de tuberculose en bouillon et sur le cobaye tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1901, t. 53, p. 691.)
1909. — Vaccination antituberculeuse des bovidés. (*C. R. Acad. Sciences*, 1909, t. 149, p. 408.)
1909. — Vaccination des bovidés contre la tuberculose. (*C. R. Soc. Biol.*, 1909, t. 66, p. 410.)
1917. — Vaccination antituberculeuse. (*C. R. Acad. Sciences*, 1917, t. 164, p. 421.)
1930. SÁBÍN (F.-R.), DOAN (C.-A.) et FORKNER (C.-E.). — Studies on tuberculosis. (*Journal of experimental medicine*. Supplément n° 3, t. LII, n° 6, déc. 1930.)
1934. SAENZ (A.) et COSTIL (L.). — Recherches sur la dissociation du bacille de KOCH. (*Presse Médicale*, n° 92, 17 nov. 1934.)
1913. SAKAE TAMURA. — Zur Chemie der Bakterien. (*Zeitsch. f. physiol. chem.*, 1913, t. LXXXVII, pp. 85-114.)
1895. SCHWEINITZ et DORSET. — The composition of the tuberculosis and glanders bacilli. (*Journal of the American Society*, 1895, t. XVII, p. 605.)
1917. SHIGA (K.). — An investigation of the therapy of tuberculosis. (*Kitasato's archives of experimental medicine*, 1917, t. I, pp. 17 et 157.)
1891. STRAUS et GAMALEIA. — Contribution à l'étude du poison tuberculeux. (*Arch. de méd. exp. et d'anat. path.*, 1891, p. 705.)

1909. VALLÉE (H.). — Recherches sur l'immunisation antituberculeuse. (*Annales Inst. Pasteur*, 1909, t. 23, pp. 585 à 603.)
1910. VALLÉE (H.) et GUINARD (L.). — Des propriétés physiologiques des extraits du bacille de KOCH condensés et sensibilisés. (*C. R. Acad. Scienc.*, 1910, t. 150, p. 1140.)
1932. VAN BENEDEN (J.). — Recherches sur l'infection, l'hypersensibilité et l'immunité vis-à-vis des formes virulentes ou atténuées du virus tuberculeux. (Masson et Cie, éditeurs, Paris, 1932.)
1932. VALTIS (J.). — Le virus tuberculeux. (Masson et Cie, éditeurs, Paris, 1932.)
1921. VAUDREMER (A.). — Un bacille tuberculeux humain, un bacille tuberculeux bovin acido-résistants facultatifs. (*C. R. Soc. Biol.*, 1921, t. 84, p. 259.)
1926. — Cultures de bacilles tuberculeux en 24 heures sur gélose. (*C. R. Soc. Biol.*, 1926, t. 94, pp. 120-123.)
1930. — Arrêt du développement de la tuberculose expérimentale des bovidés par le bacille de VALLÉE cultivé sur gélose. (*Bulletin Acad. Médecine*, juin 1930, t. CIII, n° 23.)
1924. ZINSSER et PETROFF. — Tuberculin hypersensitiveness without infection in Guinea-pigs. (*Journal of immunology Baltimore*, 1924, t. IX, pp. 85-87.)

